

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
MICROENCAPSULAÇÃO DE FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis*):
ASPECTOS DE INTERESSE PARA A INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

**CURITIBA
2014**

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO

**COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
MICROENCAPSULAÇÃO DE FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis*):
ASPECTOS DE INTERESSE PARA A INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.


Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosemary Hoffmann Ribani
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Trust Beta

**CURITIBA
2014**

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO

COMPOSIÇÃO FENÓLICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
MICROENCAPSULAÇÃO DE FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe
edulis*): ASPECTOS DE INTERESSE PARA A INDÚSTRIA DE
ALIMENTOS


Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão
formada pelos professores:



Orientadora: Prof.^a Dr.^a ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Setor de Tecnologia, UFPR



Prof.^a Dr.^a EDNA REGINA AMANTE
Centro de Ciências Agrárias, UFSC



Prof. Dr. RILTON ALVES DE FREITAS
Setor de Ciências Exatas, UFPR



Prof. Dr. OBDULIO GOMES MIGUEL
Setor de Ciências da Saúde, UFPR



Prof.^a Dr.^a AGNES DE PAULA SCHEER
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 28 de fevereiro de 2014.

Dedico essa conquista
aos meus amados pais, Silas e Neuzeli,
e ao meu grande amor Paulo César.
Com vocês dividi aflições, orações, intenções e sonhos.
Alguns destes sonhos com o tempo se vão, outros, porém tornam-se reais.
A vocês toda a minha conquista,
por vocês toda fé na vida,
para vocês todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus. Foi sempre Ele que me deu força, fé e entendimento para chegar até aqui. Agradeço pela infinita misericórdia; por sempre guiar meus passos e me fazer entender Sua Vontade em minha vida.

Minha sincera gratidão ao meu esposo Paulo César, por todo amor e compreensão nos meus muitos momentos de ausência decorrente da minha dedicação a esse trabalho. Agradeço por apoiar meus sonhos e compartilhar as minhas esperanças.

Agradeço à minha família querida, especialmente aos meus pais, Silas e Neuzeli, por todo incentivo, apoio e amor incondicional em todos os momentos da minha vida. Agradeço às minhas irmãs (Ana Carolina, Geovana e Mariane), que estão sempre torcendo pela minha felicidade.

Agradeço aos meus eternos amigos, Marlene Bampi e Flávio Thihara. Verdadeiros amigos são como estrelas, nem sempre os vemos, mas sabemos que sempre estarão lá.

Meus sinceros agradecimentos à Professora Rosemary, pela amizade, orientação, carinho, paciência e tempo despendido no decorrer desse trabalho. Levarei comigo seus preciosos ensinamentos.

Agradeço à CAPES e ao PDSE (Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior), pelo suporte financeiro e por me dar a oportunidade enriquecedora de um doutorado-sanduíche no Canadá.

Meus agradecimentos à minha orientadora na Universidade de Manitoba, Dr^a Trust Beta, pela orientação, amizade e por me fazer sentir parte do grupo de pesquisa desde que cheguei à universidade. Agradeço ao Food Science Department e ao Richardson Centre for Functional Foods and Nutraceuticals pelo apoio e oportunidade. Agradeço às técnicas que me ajudaram na realização deste trabalho – Alison e Yang Qiu, do Food Science Department. A paciência de vocês foi fundamental. Um sincero obrigado aos amigos que deixei no Canadá. Vocês fizeram tudo se tornar mais fácil.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná, aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, especialmente ao Paulo Krainski.

Obrigada a todos os meus amigos do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, pela convivência, pelas conversas, pelas risadas, pelos conselhos. Agradeço especialmente a Camila Sampaio, Gabrielli Oliveira, Érika Vasques e Ana Mery, por toda amizade e companheirismo profissional.

Meu sincero agradecimento às queridas “juçaretas”: Juliana Jó (aluna em estágio de docência), Emili Emilha Lucht e Juliana Adriely Gouveia (alunas de iniciação científica), pela amizade, colaboração na pesquisa e descontração na rotina do dia-a-dia no laboratório.

Agradeço ao Instituto Agrônomo do Paraná, e em especial, ao agrônomo Sr. Francisco Paulo Chaimsohn pela conversa informal sobre os frutos de juçara, essencial para o aprendizado, como também a doação de frutos e polpa de juçara para realização desse trabalho. Agradeço à empresa Colloïdes Naturels Brasil pela doação de goma arábica utilizada na microencapsulação da polpa de juçara.

Obrigada ao Instituto Tecnológico Simepar, pela disponibilização dos dados climáticos e ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, pela realização das análises de micrografia. Agradeço ao Marcelo Ribani, do Tecpar, que muito me ajudou com as análises de Karl Fischer e com a liofilização da polpa de juçara.

Agradeço ao Professor Rilton e Professora Maria Rita do Laboratório de Biopolímeros, por toda disponibilidade e boa vontade em me ensinar a utilizar o *spray dryer*.

Por fim quero agradecer o imenso crescimento pessoal e profissional que este Doutorado me proporcionou. Agradeço o imenso amor que tenho pela minha profissão. Agradeço por cada obstáculo que ultrapassei e que me fez mais forte. Agradeço pelas alegrias e tristezas, que se transformaram em força e aprendizado.

Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow.
The important thing is not to stop questioning
(Albert Einstein)

BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*): aspectos de interesse para a indústria de alimentos**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

RESUMO GERAL

Considerando que os frutos de juçara (*Euterpe edulis*) são fontes potenciais de compostos fenólicos e antioxidantes, e a escassez de dados acerca desse fruto, o presente trabalho foi realizado para quantificar os compostos fenólicos, especialmente antocianinas e ácidos fenólicos, e a atividade antioxidante em frutos de juçara durante seu amadurecimento. Também foi empregada a secagem por atomização para produção de microcápsulas de polpa de juçara. Uma revisão bibliográfica, abrangendo as características botânicas do gênero *Euterpe*, os principais compostos bioativos presentes nesses frutos, a biossíntese e propriedades de fenólicos nas plantas, a importância dos bioativos na saúde humana e os dados nacionais e internacionais sobre os conteúdos fenólicos em frutos de juçara, é apresentada no Capítulo 1. O Capítulo 2 descreve a variação de antocianinas durante o período de colheita do fruto, obtido por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (do inglês, *High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC-MS/MS) e a atividade antioxidante do extrato antocianico, determinada por meio da capacidade do extrato em sequestrar o radical livre (2,2-difenil-1-picrylhidrazil–DPPH) e em sequestrar radicais peróxido (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*–ORAC). No Capítulo 3, estão apresentados os perfis dos ácidos fenólicos solúveis e insolúveis presentes nos frutos de juçara ao longo do seu período de colheita. A atividade antioxidante de cada fração – solúvel e insolúvel – foi analisada pelos métodos de peroxidação do 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH) e pelo método de remoção de um radical peróxido (ORAC). O Capítulo 4 relata a microencapsulação de polpa de juçara com goma arábica ou gelatina ou maltodextrina e em diferentes proporções e temperaturas de secagem, realizadas em *spray dryer*. Utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta, definiu-se a condição otimizada para a produção de microcápsulas de juçara ricas em antocianinas. A avaliação das propriedades químicas e tecnológicas por meio de determinações físico-químicas e microscopia eletrônica de varredura foi feita nas microcápsulas obtidas nas condições otimizadas. O desenvolvimento de distintas microcápsulas de polpa de juçara permite múltiplas aplicações tecnológicas no desenvolvimento de produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, ácidos fenólicos, amadurecimento, desenvolvimento tecnológico.

BICUDO, M. O. P. **Phenolic composition, antioxidant activity and microencapsulation of juçara fruits (*Euterpe edulis*): interesting issues for the food industry**. 2014. Thesis (Doctorate in Food Engineering) – Graduate Program in Food Engineering, Federal University of Parana, Curitiba.

GENERAL ABSTRACT

Considering that the juçara fruits (*Euterpe edulis*) are potential sources of phenolic compounds and antioxidants, and the lack of data of this fruit, the present work was carried out to quantify the phenolic compounds, mainly anthocyanins and phenolic acids and antioxidant activity in juçara fruit during ripening. Microcapsules of juçara pulp were also produced by *spray drying* process. A review, covering the botanical characteristics of the genus *Euterpe*, the major bioactive compounds in these fruits, the biosynthesis and properties of phenolics in plants, the importance of bioactive in human health, and national and international data on the phenolics content of juçara fruit, is presented in Chapter 1. Chapter 2 describes the variation of anthocyanins during harvest time of the fruit, obtained by High-Performance Liquid Chromatography coupled to mass spectrometer (HPLC-MS/MS), and antioxidant activity of anthocyanin extract, measured as DPPH• scavenging activity and peroxyl radical scavenging (ORAC). Phenolic acid composition and antioxidant potential (by DPPH and ORAC methods) of insoluble and soluble extracts derived from juçara fruits in different stages of harvest are shown in Chapter 3. Chapter 4 describes microencapsulation of juçara pulp with different proportions of Arabic gum, maltodextrin and gelatin and different inlet air temperatures, using *spray dryer* process. Response Surface Methodology was used to establish optimum *spray drying* conditions for production of anthocyanin rich microcapsules from juçara fruits. We also determined physicochemical and structural properties of the microcapsules produced under the optimized *spray dryer* operating conditions. Microcapsules produced with diverse carrier agents allow a range of technological applications in food, pharmaceutical and cosmetic products .

Keywords: juçara, *Euterpe edulis*, anthocaynins, phenolic acids, ripening, technological development.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1.1 – Palmeira juçara (*Euterpe edulis*). (A) – aspecto da copa; (B) – raízes da palmeira; (C) – inflorescência; (D) – frutos de juçara em duas fases de maturação; (E) – frutos maduros e (F) – sementes de *Euterpe edulis* após despolpa 23

FIGURA 1.2 – Produção de açaí a partir de frutos de *Euterpe edulis* em despoldadeira vertical; frutos dentro do cilindro de aço inoxidável (A); adição de água durante o despoldamento (B); saída do açaí por orifício no fundo da despoldadeira (C)..... 27

FIGURA 1.3 – Esquema geral da via biossintética dos flavonóides. As enzimas são: acetil-CoA carboxilase (ACC); cinamato-4-hidroxilase (C4H); chalcona isomerase (CHI); chalcona sintase (CHS); 4-cumaryl:CoA ligase (4CL); dihidroflavonol 4-redutase (DFR); fenilalanina amonialiase (PAL); flavanona 3-hidroxilase (F3H) 38

FIGURA 1.4 – As estruturas das antocianidinas..... 39

FIGURA 1.5 – Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH..... 41

CAPÍTULO 2

FIGURA 2.1 – Cromatograma completo (0–50 minutos) registrado em 520 nm para frutos de juçara da sexta colheita (C6)..... 59

CAPÍTULO 3

FIGURA 3.1 – Perfil cromatográfico obtido por HPLC da mistura dos padrões de ácidos fenólicos (A), da fração fenólica solúvel (B) e da fração fenólica insolúvel (C), registrados em 280 nm, para frutos de juçara (*Euterpe edulis*) da sexta colheita (C6). . 80

FIGURA 3.2 – Estruturas químicas dos ácidos fenólicos identificados em frutos de juçara (*Euterpe edulis*): (A) ácidos benzóicos e (B) ácidos cinâmicos 81

CAPÍTULO 4

FIGURA 4.1 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura de microcápsulas de polpa de juçara obtidas por *spray drying* a 165°C, com 95% de polpa de juçara e 5% de goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C)..... 106

FIGURA 4.2 – Distribuição e o tamanho das microcápsulas de polpa de juçara com goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C). 108

FIGURA 4.3 – Superfícies de resposta na retenção de antocianinas em polpa de juçara microencapsulada por *spray drying*, usando goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C)..... 113

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 2.1 – Colheitas, estádios de maturação e coloração dos frutos de juçara	48
TABELA 2.2 – Dados climáticos de março a junho de 2012, na região de Morretes....	53
TABELA 2.3 – Caracterização química dos frutos de juçara (<i>Euterpe edulis</i>)	54
TABELA 2.4 – Teor de antocianinas totais dos frutos de juçara (<i>Euterpe edulis</i>) das seis colheitas e sua respectiva eficiência de extração.....	57
TABELA 2.5 – Tempo de retenção, absorção máxima, massa molecular desprotonada, íons produzidos, e nome do composto dos picos 1–6.....	60
TABELA 2.6 – Conteúdo de antocianinas (mg aglicona equivalentes/100g de polpa seca) em polpa de frutos de juçara (<i>Euterpe edulis</i>) durante as seis colheitas.....	63
TABELA 2.7 – Conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato antociânico dos frutos de juçara colhidos entre os meses de março e junho.....	66

CAPÍTULO 3

TABELA 3.1 – Tempo de retenção, absorção máxima, massa molecular desprotonada, íons produzidos, e nome do composto dos picos 1–10.....	82
TABELA 3.2 – Conteúdo de ácidos fenólicos totais (mg de ácido fenólico equivalente/100g de polpa liofilizada) e percentagem da fração solúvel em polpa de frutos de juçara (<i>Euterpe edulis</i>) durante as seis colheitas	83
TABELA 3.3 – Atividade antioxidante das frações solúvel e insolúvel dos frutos de juçara colhidos entre os meses de março e junho	86

CAPÍTULO 4

TABELA 4.1 – Parâmetros técnicos e resultados principais da microencapsulação por <i>spray drying</i> de materiais contendo antocianinas.....	98
TABELA 4.2 – Fatores e níveis (valores codificados entre parênteses) para o Delineamento Composto Central Rotacional.....	100
TABELA 4.3 – Caracterização química da polpa de juçara (<i>Euterpe edulis</i>) antes e após o processo de centrifugação	104
TABELA 4.4 – Teores de antocianina (mg de cianidina 3- <i>O</i> -glicosídeo/100g) nas microcápsulas de polpa de juçara atomizada com diferentes materiais de parede.....	109

TABELA 4.5 – Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (<i>p</i> -valor) para a retenção de antocianinas em polpa de juçara microencapsulada com goma arábica, gelatina e maltodextrina	111
TABELA 4.6 – Equações que representam a resposta em função da temperatura de entrada no <i>spray dryer</i> (X_1) e da quantidade de polpa de juçara (X_2) nas microcápsulas de goma arábica, gelatina e maltodextrina	112
TABELA 4.7 – Propriedades tecnológicas das microcápsulas de juçara com goma arábica, gelatina e maltodextrina, produzidas nas condições otimizadas de processo .	114
TABELA 4.8 - Parâmetros cinéticos da degradação de antocianinas das microcápsulas de juçara durante estocagem a 40°C e umidade relativa de 75% por 30 dias	117

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. JUSTIFICATIVA.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1. OBJETIVO GERAL.....	18
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4. DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO	19

CAPÍTULO 1

FRUTOS DE JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> M.) E COMPOSTOS FENÓLICOS – UMA REVISÃO.....	20
1. CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DAS PALMEIRAS <i>Euterpe</i>	21
1.1. <i>Euterpe precatoria</i> Martius	21
1.2. <i>Euterpe oleracea</i> Martius	22
1.3. <i>Euterpe edulis</i> Martius	22
2. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS DA ESPÉCIE <i>Euterpe edulis</i>	25
3. PROCESSAMENTO DOS FRUTOS	26
4. PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE AÇAÍ	28
5. JUÇARA: O AÇAÍ OBTIDO DE <i>Euterpe edulis</i>	29
6. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO AÇAÍ.....	31
7. COMPOSTOS FENÓLICOS EM AÇAÍ: PROPRIEDADE FUNCIONAL	32
8. COMPOSTOS FENÓLICOS	35
8.1 Biossíntese de compostos fenólicos	36
8.2 Antocianinas: estrutura e características	38
8.2.1 Estrutura	38
8.2.2 Estabilidade de antocianinas	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42

CAPÍTULO 2

ANTOCIANINAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ANTOCIÂNICO DE FRUTOS DE JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> M.).....	43
RESUMO	44
ABSTRACT	45
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1. Material vegetal.....	47
2.2. Padrões e solventes.....	48
2.3. Dados climáticos	49
2.4. Preparo do extrato antociânico.....	49
2.5. Análise de antocianinas totais	49

2.6.	Análise de antocianinas por HPLC-MS/MS.....	50
2.7.	Determinação do conteúdo fenólico total.....	51
2.8.	Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH.....	51
2.9.	Atividade antioxidante por ORAC.....	51
2.10.	Análise estatística	52
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
3.1.	Dados climáticos	52
3.2.	Caracterização química	53
3.3.	Análise de antocianinas	55
3.3.1.	Antocianinas totais pelo método do pH diferencial.....	55
3.3.2.	Identificação de antocianinas por HPLC-MS/MS	58
3.3.2.1.	Identificação de glicosídeo de cianidina.....	60
3.3.2.2.	Identificação de glicosídeo de pelargonidina	61
3.3.2.3.	Identificação de glicosídeo de peonidina	61
3.3.3.	Quantificação de antocianinas por HPLC.....	62
3.4.	Quantificação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante	65
3.4.1.	Conteúdo de fenólicos totais	66
3.4.2.	Atividades antioxidantes	67
4.	CONCLUSÃO.....	69

CAPÍTULO 3

ÁCIDOS FENÓLICOS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM FRUTOS DE JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> M.) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	70
RESUMO	71
ABSTRACT	72
1. INTRODUÇÃO.....	73
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1. Material vegetal.....	75
2.2. Padrões e solventes.....	75
2.3. Extração dos ácidos fenólicos.....	75
2.4. Análise dos ácidos fenólicos por HPLC-MS/MS	76
2.5. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH.....	77
2.6. Atividade antioxidante por ORAC.....	77
2.7. Análise estatística.....	78
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
3.1. Identificação dos ácidos fenólicos solúveis e insolúveis em frutos de juçara	78
3.2. Quantificação dos ácidos fenólicos por HPLC	82
3.3. Atividade antioxidante das frações solúvel e insolúvel.....	85
4. CONCLUSÃO.....	88

CAPÍTULO 4

MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> M.) COM DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE	89
RESUMO	90
ABSTRACT	91
1. INTRODUÇÃO.....	92
1.1. Microencapsulação.....	93
1.2. Material de parede.....	94
1.2.1. Goma Arábica.....	94
1.2.2. Maltodextrina	95
1.2.3. Gelatina	96
1.3. Microencapsulação por <i>spray drying</i> de antocianinas padrões ou isoladas	96
2. MATERIAL E MÉTODOS	99
2.1. Amostras e materiais de parede	99
2.2. Delineamento experimental	99
2.3. Preparação das soluções e secagem em <i>spray dryer</i>	100
2.4. Caracterização química da polpa de juçara	101
2.5. Determinação de antocianinas e eficiência da microencapsulação.....	101
2.6. Caracterização das micropartículas.....	102
2.7. Degradação das antocianinas	103
2.8. Análise estatística.....	103
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
3.1. Caracterização química da polpa	104
3.2. Morfologia e distribuição do tamanho das microcápsulas	105
3.3. Otimização da microencapsulação por <i>spray drying</i>	108
3.4. Propriedades tecnológicas da microcápsula produzida nas condições otimizadas de processo	113
3.5. Cinética da degradação das antocianinas.....	117
4. CONCLUSÃO.....	118
CONCLUSÕES GERAIS	119
REFERÊNCIAS	120

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Euterpe* popula as matas brasileiras há muitos séculos. Na Região Norte as espécies *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria* são encontradas não apenas no Brasil, mas também nos países vizinhos que compartilham a floresta Amazônica. A espécie *Euterpe edulis* é encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o Norte do Rio Grande do Sul, em altitudes de até 600 m. A exploração de recursos a partir de palmeiras *Euterpe* apresenta características e intensidades diferentes: no Sudeste do Brasil a *Euterpe edulis* (juçara) foi usada como fonte de palmito até tornar-se espécie ameaçada; no Norte e em especial no nordeste paraense e Amapá, diz a lenda que populações indígenas foram presenteadas pelos deuses com o açazeiro (*Euterpe oleracea*) para aplacar uma grande fome.

Na literatura, inúmeras pesquisas descrevem a composição fenólica, as propriedades antioxidantes e, conseqüentemente, os benefícios do açaí (*Euterpe oleracea*) à saúde. O açaí tem alto conteúdo de antocianinas (principalmente cianidina 3-*O*-glicosídeo e cianidina 3-*O*-rutinosídeo) e de fenólicos. O açaí começou a ser exportado no ano de 2001, com o apelo de ser um produto funcional, proporcionando bem estar, saúde, além de propiciar um sabor exótico.

O fruto juçara (*Euterpe edulis*) é arredondado, de cor violáceo/púrpura e quase negro quando maduro. Tem uma polpa fina que recobre uma semente dura. Apesar de sua ampla distribuição no Brasil, o fruto juçara (*Euterpe edulis*) é muito menos conhecido e processado para o consumo do que o açaí produzido dos frutos das espécies *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*.

Nesse contexto, considerando a relevância econômica e ecológica da extração dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*) para comercialização na forma de polpa e o potencial para processamento de novos produtos de valor agregado, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil de compostos fenólicos ao longo do período de colheita dos frutos de juçara e produzir polpa de juçara em pó, utilizando diferentes materiais de parede. Estas análises, além de contribuir significativamente para a elucidação das características dos frutos de juçara nos diferentes estádios de colheita, também auxiliarão na determinação do ponto ótimo de colheita. A produção de microcápsulas de polpa de juçara ricas em antocianinas permite as aplicações tecnológicas nas áreas alimentícia e farmacêutica.

2. JUSTIFICATIVA

Palmeira juçara é considerada um componente escasso da floresta. A produção de açaí a partir da polpa dos frutos de juçara, ao invés da extração do palmito, tem sido apontada como alternativa e estratégia importante para a conservação desta espécie e das florestas nativas, além do potencial sócio-econômico e geração de renda das comunidades rurais na área de abrangência da Mata Atlântica. No entanto, quando se trata da colheita dos frutos, deve-se analisar uma série de fatores para que o equilíbrio e a capacidade de suporte do ecossistema sejam respeitados. O ideal é sempre deixar certa quantidade de frutos no pé, para que os animais possam se alimentar e para que outras palmeiras nasçam a partir dos frutos que caírem no chão. A quantidade e a frequência com que os frutos de juçara são extraídos da natureza devem ser controladas, para que a matéria-prima em questão não corra risco de extinção por extração e utilização irrefreada. Além disso, o replantio a partir das sementes obtidas no despulpamento é essencial para continuidade da espécie.

A revisão da literatura mostra que ainda há pouca informação a respeito da identidade e do teor de compostos fenólicos envolvidos no processo de amadurecimento de frutos de juçara, os quais são diretamente influenciados pelas condições ambientais. Tais informações são fundamentais para o processamento e armazenamento destes frutos pela indústria de alimentos.

Os frutos de juçara são, principalmente, usados para a produção de polpa congelada. No entanto, a alta perecibilidade dos frutos de juçara é o principal fator limitante da vida de prateleira destes frutos. Uma das alternativas para aumentar a vida de prateleira desses frutos, bem como para possibilitar sua adição em sistemas hidrofílicos, é o encapsulamento por *spray-dryer*.

A melhor caracterização das propriedades antioxidantes dos frutos de juçara deverá aumentar o apelo comercial destes frutos e, conseqüentemente, o interesse da indústria alimentícia em sua utilização. Além disso, espera-se aumentar a rentabilidade de pequenos produtores, que são responsáveis pela maior parte da produção destes frutos.

3. OBJETIVOS

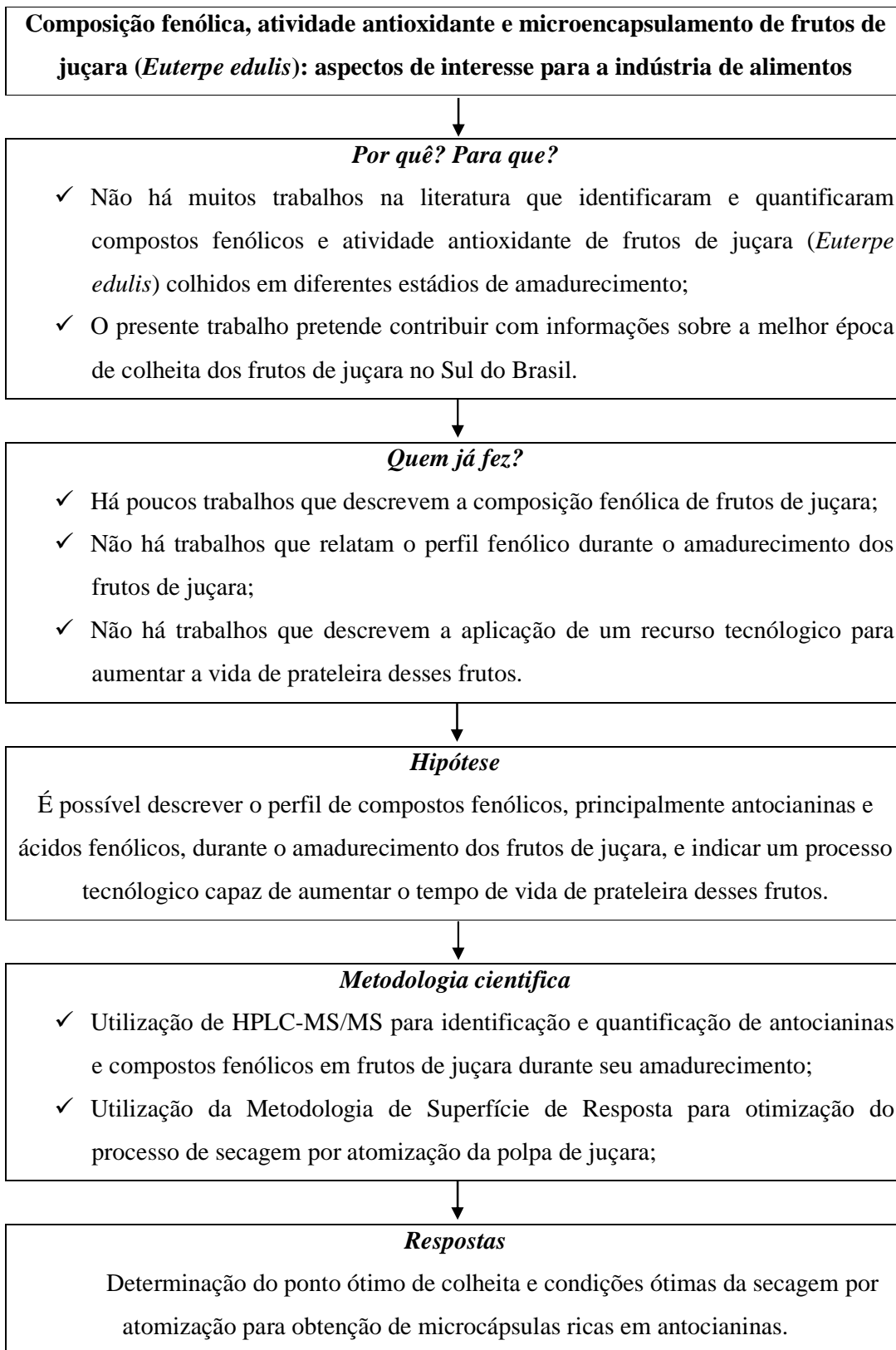
3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar as características físico-químicas e tecnológicas dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*) de interesse para a indústria de alimentos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil de variação de antocianinas durante o seu período de colheita;
- Determinar a atividade antioxidante do extrato antociânico dos frutos de juçara visando sua posterior utilização em produtos comerciais considerados como funcionais;
- Analisar o perfil de variação de ácidos fenólicos solúveis e insolúveis ao longo do seu período de colheita;
- Determinar a atividade antioxidante da fração solúvel e insolúvel dos extratos dos frutos de juçara;
- Otimizar as condições de processo na microencapsulação da polpa de juçara por *spray dryer*, utilizando goma arábica, gelatina e maltodextrina como material de parede;
- Caracterizar as microcápsulas de juçara por microscopia eletrônica de varredura;
- Determinar as características físico-químicas das microcápsulas produzidas nas condições otimizadas;
- Determinar a cinética de degradação das antocianinas nas microcápsulas em pó por meio do estudo de estabilidade acelerada.

4. DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO



CAPÍTULO 1

FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) E COMPOSTOS FENÓLICOS – UMA REVISÃO

1. CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DAS PALMEIRAS *Euterpe*

As palmeiras são plantas monocotiledôneas da família Arecaceae e representam os maiores símbolos das florestas tropicais, com cerca de 200 gêneros e 2000 espécies, sendo que no Brasil existem 119 espécies em 39 gêneros (LORENZI *et al.*, 2004). As espécies desta família desempenham papéis importantes na estrutura e funcionamento dos ecossistemas devido à sua rede de interações com polinizadores e dispersores, sendo consideradas espécies-chave; além de apresentarem grande valor para as populações humanas. No entanto muitas espécies estão ameaçadas pela exploração de seus produtos pelo homem e pela destruição de seus habitats (PIRES, 2006).

O gênero *Euterpe* está amplamente distribuído na América Central e do Sul, habitando florestas de terras baixas e montanhas de florestas tropicais. No Brasil cinco espécies e variedades são relatadas: *Euterpe edulis* Martius (palmiteiro ou juçara), *Euterpe catinga* Wallace (açaí da caatinga), *Euterpe oleraceae* Martius (açazeiro), *Euterpe longibracteata* Barbis Rodrigues (açaí da terra firme), *Euterpe precatoria* Martius (açaí do Amazonas). Destas, apenas a primeira se distribui até o sul do Brasil pela costa Atlântica; as demais espécies distribuem-se na Floresta Amazônica (HENDERSON, 2000).

As cinco espécies formam cachos de frutos sésseis, esféricos, drupáceos, de cor violáceo-púrpura, e quase negra quando maduros. Cada fruto, que pesa em média 1,5 grama, possui um caroço e uma fina camada de polpa constituída pelo epicarpo e a parte externa do mesocarpo. A parte interna do mesocarpo é fibrosa e está soldada ao endocarpo lenhoso (HENDERSON, 2000; ROGEZ, 2000).

1.1. *Euterpe precatoria* Martius

A espécie *Euterpe precatoria* é uma palmeira monocaule nativa da Amazônia Ocidental (Acre, Amazonas, Pará e Rondônia), encontrada principalmente em florestas de terra baixa ao longo de rios, nas áreas de inundações periódicas, abaixo de 350 m de altitude. O açazeiro-do-Amazonas possui estipe (caule) cilíndrico com 15 a 20 cm de diâmetro, coloração cinza-escura, sem espinhos, com cicatrizes aneladas resultantes da queda das bainhas, e pode atingir até 25 metros de altura (HENDERSON, 2000). Os frutos de *Euterpe precatoria* são globosos (0,9 a 1,3 cm de diâmetro) e de coloração roxa escura, com período de colheita de dezembro a agosto, os quais são utilizados no beneficiamento do açaí (ROGEZ, 2000; LORENZI *et al.*, 2004).

1.2. *Euterpe oleracea* Martius

As palmeiras *Euterpe oleracea* Martius, popularmente conhecidas como o açazeiro, apresentam mais de 25 estipes por touceira, de 15 a 20 m de altura e de 12 a 18 cm de diâmetro. É uma espécie que ocorre frequentemente em ecossistemas de várzea, sob influência das marés e inundações, ou seja, em solos bastante úmidos. No Brasil, o açazeiro é particularmente frequente na região do estuário amazônico, nos Estados do Pará, Maranhão e Amapá, e estende-se até o Panamá, norte do Equador e Colômbia, Trinidad, Venezuela e Guianas (HENDERSON, 2000; LORENZI *et al.*, 2004). A espécie *Euterpe oleracea* tem capacidade de formar novos estipes na base da touceira a cada ano, sendo assim, sua regeneração é, teoricamente, infinita. Cada estipe pode produzir de 3 a 8 cachos de frutos por ano dependendo da fertilidade e umidade do solo e da intensidade luminosa (CAVALCANTE, 1991). Os frutos podem ser obtidos por todo o ano, com alta estação entre agosto e dezembro onde apresentam melhor qualidade sensorial (ROGEZ, 2000). De acordo com Oliveira, Carvalho e Nascimento (2000), as palmeiras de *Euterpe oleracea* são utilizadas na produção de celulose, em construções rústicas, além de servirem como planta ornamental.

1.3. *Euterpe edulis* Martius

Euterpe edulis é uma espécie encontrada na floresta ombrófila densa, sendo seu principal habitat ao longo da costa Atlântica. Sua distribuição geográfica vai desde o Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e no nordeste da Argentina e Sudeste do Paraguai, em florestas tropicais entre o nível do mar e até 1.000 metros de altitude (HENDERSON, 2000).

A espécie *Euterpe edulis*, conhecida também como juçara, içara, palmito doce, ripa ou palmiteiro, é uma palmeira de caule ereto e único, delgado e cilíndrico, que pode alcançar de 20 a 25 metros de altura. Entre o término do tronco e a parte onde nascem as folhas, há uma seção verde, mais grossa que o tronco, formada pela base do conjunto de folhas (**FIGURA–1.1A**). Segundo Henderson (2000), é dentro desta seção que se encontra a parte comestível da palmeira. No ápice encontra-se um tufo de folhas alternas pinadas de cor verde-oliva a verde-escuro, em número de 8 a 15, de 1,5 a 3 m de comprimento, que se destacam com facilidade da planta. Cada folha tem de 38 a 70 unidades (pinas) de cada lado, regularmente distribuídas ao longo do eixo central

(raque). Na base do estipe encontra-se um cone visível de raízes de cor marrom até vermelho (**FIGURA–1.1B**).

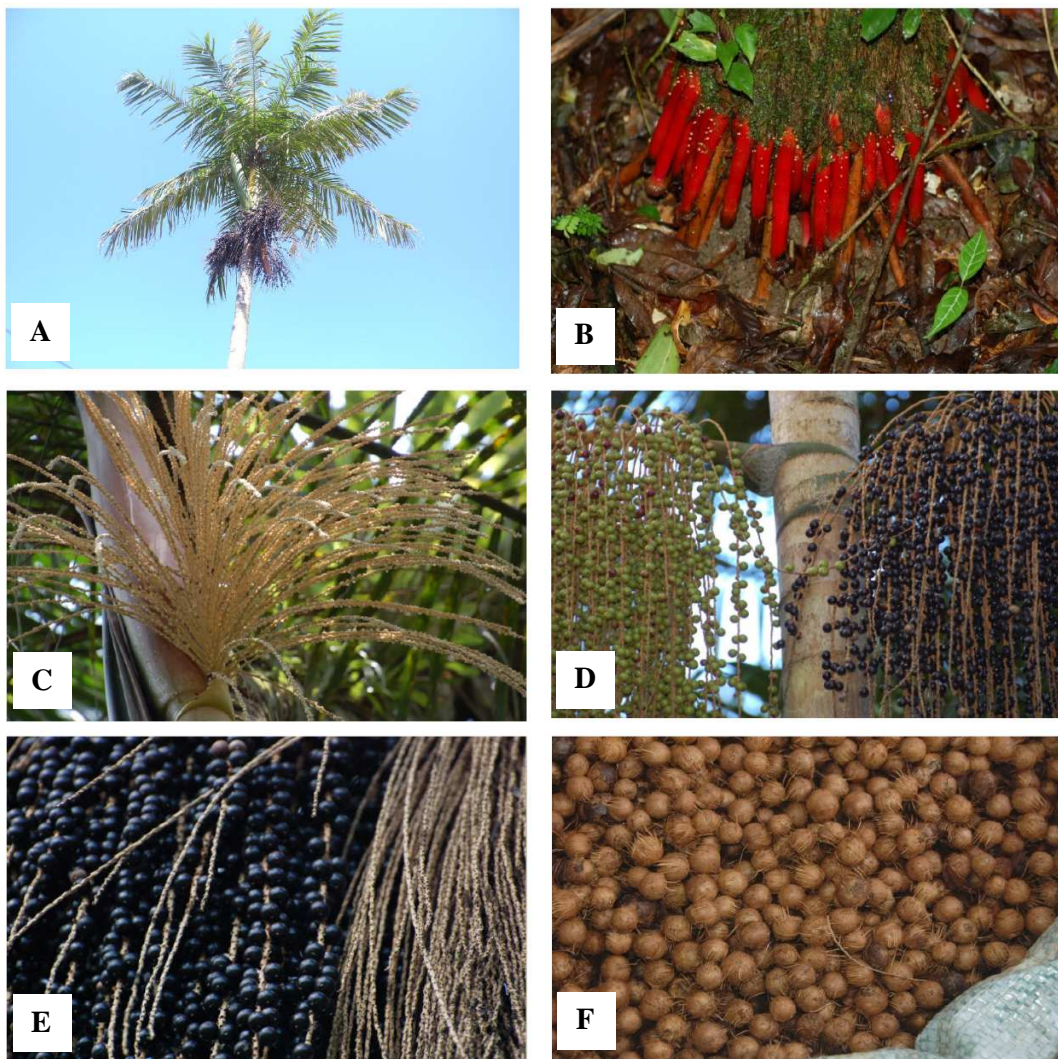


FIGURA 1.1 – Palmeira juçara (*Euterpe edulis*). (A) – aspecto da copa; (B) – raízes da palmeira; (C) – inflorescência de *Euterpe edulis*; (D) – frutos de juçara em duas fases de maturação; (E) – frutos maduros e (F) – sementes de *Euterpe edulis* após despolpa. Fonte: Garbin (2011).

Cada palmeira produz de 1 a 5 inflorescências que são intrafoliares e mais ou menos horizontais quando abrem as flores. As inflorescências, do tipo panícula, possuem flores pequenas em tríade (uma flor feminina e duas masculinas) (**FIGURA–1.1C**). Os cachos são formados por milhares de frutos que são fibrosos e globosos com 1 a 1,4 cm de diâmetro, do tipo drupa (HENDERSON e GALEANO, 1996;

HENDERSON, 2000). Durante o desenvolvimento do fruto a casca é verde, passando gradativamente de verde a roxa ou preta quando madura (**FIGURA-1.1D**). O mesocarpo carnoso se encontra entre a casca (epicarpo) e o endocarpo (coquinho). O endocarpo é lenhoso, envolvendo completamente a semente; quando imaturo é facilmente rompido, adquirindo consistência dura quando o fruto apresenta cor roxa exteriormente (**FIGURA-1.1E**). O fruto de juçara maduro apresenta propriedades sensoriais e nutritivas similares aos frutos de açaí (*Euterpe oleracea*, *Euterpe precatoria*) (SILVA, BARRETO e SERÔDIO, 2004). No fruto já despulpado, o endocarpo solta fibras, parecendo uma semente “descabelada” (**FIGURA-1.1F**). A semente é uma amêndoa constituída por um endosperma não ruminado de parte carnosa e branca, onde se encontram as reservas nutritivas e que envolve o embrião (HENDERSON, 2000; LORENZI *et al.*, 2004).

A palmeira juçara é um dos produtos não madeiráveis mais explorados na Mata Atlântica e sua principal característica é a produção de palmito de excelente qualidade, com valor econômico elevado e largamente consumido na alimentação humana, porém, por ser uma palmeira unicaule, não rebrota na base e o corte do palmito implica na morte da planta. No entanto, na cadeia alimentar do ecossistema florestal, o palmitreiro é de grande importância ecológica, pois apresenta elevados níveis de interação com os animais e desempenha um papel fundamental na nutrição da fauna da Mata Atlântica por meio de seus frutos (REIS e KAGEYAMA, 2000; CARVALHO, 2003). Em virtude do intenso extrativismo do seu palmito a regeneração natural está comprometida, pois o corte de indivíduos das populações nativas de palmitreiro ainda é prática comum no Brasil (MAC FADEN, 2005; SCHULTZ, 2008). Na tentativa de reverter essa situação, a Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos estabeleceu, em 2010, a Resolução 19/2010 que dispõe normas e procedimentos para a proteção e utilização do palmitreiro (*Euterpe edulis* M.) no Estado do Paraná, incluindo a proibição da retirada de palmito proveniente de populações naturais, por se tratar de uma espécie ameaçada de extinção (SEMA, 2010).

No Sul do Brasil, os agricultores estão utilizando os frutos produzidos pelo palmitreiro (*Euterpe edulis*) para fabricação de açaí. Além de ser uma atividade de utilização de um produto florestal não madeireiro, a coleta de frutos é uma alternativa para conciliar a proteção ambiental e o rendimento econômico de modo racional e equilibrado, contribuindo para a conservação do bioma ameaçado e evitando o corte da palmeira (MAC FADEN, 2005; SILVA FILHO, 2005; SCHULTZ, 2008).

2. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Euterpe edulis*

No Estado do Paraná, a espécie *Euterpe edulis* ocorre em toda a Floresta Atlântica de planície e encosta até o nível de 700 metros de altitude, adentrando pelo vale do rio Ribeira, difundindo-se também nas florestas tropicais e subtropicais do norte e oeste do Estado, com topografia complexa resultando em diferentes altitudes, inclinações, composição de solo e condições climáticas (INOUE, RODERJAN e KUNIYOSHSI, 1984). É uma espécie que exige no mínimo 1.500 mm de chuva anuais para crescer com exuberância, e em geral, não é exigente quanto ao tipo de solo, crescendo bem em solos ácidos e ricos em matéria orgânica (EMBRAPA, 1988).

A espécie *Euterpe edulis* é uma planta monóica, polinizada por insetos e dispersada por aves e mamíferos. Sua floração ocorre uma vez por ano e pode-se estender de agosto até janeiro, ocorrendo sobreposição entre florescimento e frutificação. O início da fase reprodutiva é determinado por uma série de fatores os quais estão relacionados principalmente ao meio ambiente em que as plantas se encontram. O desenvolvimento do fruto é lento, demorando cerca de oito meses para atingir a maturação. (MANTOVANI e MORELLATO, 2000; FISCH, NOGUEIRA e MANTONAVI, 2000; CASTRO, 2007).

As palmeiras (*Euterpe edulis*) que recebem grande quantidade de luz no sistema de produção por mudas atingem a fase reprodutiva entre o sétimo e o décimo ano, e podem apresentar até seis inflorescências em cada planta (MANTOVANI e MORELLATO, 2000). No entanto, no interior da floresta nativa não existem dados disponíveis sobre a idade reprodutiva das plantas, e o número de inflorescências encontrado em plantas nesse ambiente foi, em média, duas por planta (REIS, 1995).

Uma palmeira em estágio reprodutivo não emitirá inflorescências sem que tenha uma capacidade mínima de reservas para formação de frutos. Segundo Mantovani e Morellato (2000), de todas as inflorescências formadas na planta, apenas 50% formarão frutos. Plantas localizadas em condições de maior luminosidade podem emitir maior número de inflorescência e infrutescências. Outra causa da variação de formação dos frutos pode estar relacionada à maior ou menor ação de insetos polinizadores (REIS, 1995).

A altitude tem grande influência sobre o período de amadurecimento dos frutos de juçara. No estudo realizado por Nodari *et al.* (1998), as palmeiras localizadas a 650 m de altitude no município de Blumenau apresentaram floração entre os meses de abril

e junho e maturação dos frutos de dezembro a fevereiro. Nas regiões com menores elevações, os dois eventos ocorrem em épocas inversas. De acordo com Tsukamoto Filho (1999), na região litorânea, o período de amadurecimento ocorre de abril a novembro, enquanto nas palmeiras isoladas na mata, ocorre entre abril e junho.

O ponto ideal de colheita dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*) é determinado de forma semelhante aos frutos de açaí (*Euterpe oleracea*). O ponto final de maturação dos frutos é caracterizado pela coloração violácea a quase negra do epicarpo, consequência da síntese de compostos antociânicos (MANTOVANI e MORELLATO, 2000; ROGEZ, 2000).

3. PROCESSAMENTO DOS FRUTOS

Os frutos da palmeira juçara (*Euterpe edulis*) têm sabor relativamente insípido, quando comparado com a maioria das frutas tropicais tradicionalmente consumidas como fruta fresca, e apresentam escasso rendimento de parte comestível, sendo que a polpa corresponde a 15% do peso dos frutos. Sendo assim, os frutos de juçara não são consumidos *in natura*. Existem duas formas de processamento do açaí: o tradicional e o industrial, que é feito com o auxílio de uma despulpadora mecânica (ROGEZ, 2000; MAC FADDEN, 2005).

A produção tradicional do açaí consiste no despulpamento manual dos frutos de palmeiras do gênero *Euterpe*. Neste processamento, os frutos são embebidos em água morna (40 °C) e em seguida amassados sobre uma peneira de fibras naturais. Neste procedimento ocorre a separação da polpa, caroço e casca. A água é progressivamente adicionada a fim de separar definitivamente os caroços e as cascas. A mistura da polpa e água é novamente amassada durante 10 a 15 minutos para formar uma emulsão a qual é filtrada por uma peneira, obtendo-se assim o açaí (ROGEZ, 2000).

Na produção comercial do açaí, a primeira etapa de processamento refere-se à seleção dos frutos. São utilizados frutos sadios e bem maduros de coloração negra, enquanto frutos vermelhos, verdes e injuriados são descartados. Após a seleção dos frutos, estes são lavados em água potável e corrente e, em seguida, são embebidos em água morna por um determinado tempo para o amolecimento do mesocarpo. A temperatura e o tempo de imersão variam de acordo com a empresa que processa o fruto. A etapa final envolve o despulpamento mecânico utilizando uma despulpadeira elétrica vertical (**FIGURA 1.2**) composta de uma peneira de furos menores que 0,6

milímetros (mm) no fundo. Na despulpadeira, os frutos são batidos, e em seguida, água é adicionada progressivamente. Uma emulsão é formada e o açaí desce por gravidade através da peneira, podendo então ser coletado (ROGEZ, 2000).



FIGURA 1.2 – Produção de açaí a partir de frutos de *Euterpe edulis* em despulpadeira vertical; frutos dentro do cilindro de aço inoxidável (A); adição de água durante o despulpamento (B); saída do açaí por orifício no fundo da despulpadeira (C).

Fonte: Schultz (2008).

A quantidade de água adicionada na extração da polpa determina o tipo de açaí que é produzido. Segundo a Instrução Normativa 01/2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o açaí é classificado em: açaí fino ou popular (tipo C) – entre 8 e 11 % de sólidos totais; açaí médio ou regular (tipo B) – entre 11,1 e 14 % de sólidos totais; e açaí grosso ou especial (tipo A) – acima de 14 % de sólidos totais (BRASIL, 2000). Assim como o açaí (*Euterpe oleracea*), frutos de juçara (*Euterpe edulis*) são altamente perecíveis, sendo seu tempo máximo de conservação de 12 horas, mesmo sob refrigeração (ROGEZ, 2000). De acordo com Alexandre, Cunha e Hubinger (2004), a alta perecibilidade é devido à ação enzimática e à elevada carga microbiana, que causam alterações indesejáveis de cor e sabor.

A conservação da polpa de açaí é realizada através do método de congelamento em câmara fria, um processo oneroso, em termos de investimento, manutenção de equipamentos, estocagem e transporte. O processamento seguido de pasteurização da polpa de açaí é utilizado com intuito de aumentar a vida de prateleira e garantir a segurança no consumo do produto (ALEXANDRE, CUNHA e HUBINGER, 2004; SCHULTZ, 2008).

4. PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE AÇAÍ

O açaí é um fruto produzido, principalmente, na região Norte do Brasil. O estado do Pará destaca-se como maior produtor de açaí do país, com cerca de 109 mil toneladas de frutos em 2011, o que representa em torno de 51% da produção extrativa nacional e 54% da produção extrativa da região Norte. Nos anos anteriores, a participação do Pará nunca foi inferior a 90%. No entanto, a valorização do açaí vem despertando interesse de outros estados da região Norte, como por exemplo, o Amazonas, que em 2011 contribuiu com 44% da produção regional. Os únicos Estados fora da região Norte que figuram nas estatísticas oficiais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística são o Maranhão e a Bahia, que juntos produziram cerca de 12 mil toneladas de frutos em 2011 (IBGE, 2011).

Segundo Santana, Carvalho e Mendes (2008), até meados dos anos 1990, o açaí provinha quase que exclusivamente do extrativismo e era o produto básico da alimentação das populações ribeirinhas e das camadas de baixa renda dos centros urbanos da economia amazônica. No entanto, a partir do ano de 2001, a alta de preço ocasionada pelo incremento de novos mercados e das exportações provocou a escassez do produto e a elevação dos preços ao consumidor local, principalmente no período da entressafra, de janeiro a junho. O reflexo imediato da valorização do produto resultou na expansão de açaizais manejados em áreas de várzeas, e estimulou a implantação de plantios racionais em área de terra firme (NOGUEIRA, 2006).

Enquanto na região Norte o açaí é consumido, na maioria das vezes, na refeição principal, puro ou misturado com farinha de mandioca; nas regiões Sul e Sudeste, é consumido como bebida energética, principalmente entre os jovens de classes média e alta, geralmente misturada com xarope de guaraná e outras frutas tropicais. O açaí também serve como ingrediente para sorvetes, licores, doces, néctares e geleias; e como matéria prima para extração de corantes e antocianinas (NOGUEIRA, 2006). No mercado externo, o consumo vem crescendo, em média, 20% ao ano. A polpa congelada é exportada para Estados Unidos e Itália desde o ano 2000, onde se tornou popular a mistura do açaí com outras frutas (COHEN e ALVES, 2006).

A produção de açaí a partir de *Euterpe edulis* em Estados extra-amazônicos não figura nas estatísticas do IBGE. Entretanto esta produção existe, com experiências formais e informais de fabricação e comercialização de açaí nos estados de Santa

Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (MAC FADDEN, 2005; SILVA FILHO, 2005, CHAIMSOHN *et al.*, 2009).

5. JUÇARA: O AÇAÍ OBTIDO DE *Euterpe edulis*

De acordo com a legislação brasileira o termo açaí é atribuído ao produto extraído da parte comestível dos frutos de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) após amolecimento da polpa, por meio de processos tecnológicos adequados (BRASIL, 2000), e que se caracteriza pelo elevado teor de lipídeos e pigmentos antociânicos (ROGEZ, 2000).

O hábito de consumo do açaí na região norte do Brasil data de vários séculos (ROGEZ, 2000), sendo que essa bebida constituía uma parte importante da alimentação indígena antes da chegada dos europeus (CANTO, 2001). A partir dos anos 90, o consumo deste alimento foi incrementado nos Estados da região Sul e Sudeste do Brasil, principalmente devido à demanda do público jovem de classe média a alta, prefigurando o desenvolvimento de uma nova produção de renda (ROGEZ, 2000).

A experiência consolidada do açaí obtido de *Euterpe oleracea* vem servindo de norteador para a obtenção de açaí de juçara, ou juçaí, a partir de *Euterpe edulis* e já existem algumas experiências comerciais pontuais no Sul e no Sudeste do Brasil, como Santa Catarina, Paraná e São Paulo, e no sul da Bahia, onde o suco da polpa é ofertado em pequeno volume, devido à escassez do fruto, porém com grande aceitação, principalmente pelo sabor mais adocicado que o do açaí (SILVA, BARRETO e SERÔDIO, 2004). Esforços vêm sendo realizados no intuito de regularizar a produção de açaí a partir de *Euterpe edulis*, seja pela inserção da espécie no padrão de identidade e qualidade existente para o *Euterpe oleracea* ou por meio da elaboração de um documento próprio. Este último tem sido defendido pela rede de articulação socioeconômica denominada “Rede Juçara”, como uma estratégia de marketing ao diferenciar os produtos e evitar a concorrência com a indústria estabelecida na região amazônica.

No ano de 2008, o Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), em parceria com a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), a Associação dos Produtores Rurais e Artesanais de Antonina (ASPRAN) e com apoio do Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE), iniciou um projeto com agricultores familiares do município de Antonina/PR para atividades de produção e processamento de frutos de

juçara (*Euterpe edulis*) no litoral do Paraná. O projeto aborda três grandes linhas de pesquisa:

- i) Produção de frutos de juçara em sistemas agroflorestais, levando em consideração as características fenológicas (floração e frutificação) e avaliando o período e rendimento de frutos de juçara em função das condições edafoclimáticas e dos sistemas de produção no litoral do Paraná;
- ii) Produção de polpa de juçara e co-produtos, que inclui a análise do rendimento e da qualidade da polpa; prevê também a realização de oficinas para análise e capacitação no uso de ferramentas para garantia da qualidade dos processos e produtos, e o desenvolvimento de produtos a base de polpa de frutos de juçara e co-produtos;
- iii) Gestão do negócio, comercialização e marketing, que tem por objetivo orientar e instrumentalizar os agricultores do litoral do Paraná na gerência e administração do negócio, comercialização, marketing e promoção do(s) produto(s) derivados de juçara.

O projeto está ajudando os pequenos produtores e contribuindo para o desenvolvimento das comunidades de agricultores do Litoral do Paraná, transferindo tecnologias para produção de frutos de juçara e orientando os agricultores com relação ao seu processamento. É um trabalho de grande relevância, pois está desenvolvendo uma forma de obtenção de renda para os agricultores e também está contribuindo para o desenvolvimento de uma atividade sustentável que vem a favorecer a preservação da espécie *Euterpe edulis*. Segundo Chaimsohn *et al.* (2009), desde a implantação do projeto, houve melhoria da qualidade da polpa de juçara como consequência das mudanças nos procedimentos de processamento de polpa, e da capacitação de participantes do processo; e um impacto muito significativo na produção de polpa, que passou dos cerca de 300 a 400 kg anuais para mais de 4.000 kg anuais.

O manejo dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*), para obtenção do açaí e de sementes, é considerado como uma estratégia importante para a conservação desta espécie e das florestas nativas, além do potencial sócio-econômico, da segurança alimentar e geração de renda das comunidades rurais nos locais de Mata Atlântica. O estímulo para o manejo dos frutos, ao invés do palmito, pode contribuir consideravelmente para reduzir a pressão sobre esta espécie além da resolução de conflitos sócio – ambientais relacionados ao uso de recursos naturais, por comunidades inseridas em áreas de preservação permanente ou em seu entorno.

6. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO AÇAÍ

Segundo Rogez (2000), o açaí pode ser considerado um dos alimentos mais completos nutricionalmente, que embora sendo mais reconhecido pelo teor lipídico e teor de compostos fenólicos, apresenta ainda importante teor de proteínas, fibras alimentares, macro e micro nutrientes. O açaí apresenta, em média, da matéria seca, 50% de lipídios, 25% de fibras alimentares e 10% de proteínas, o que o torna um alimento de alto valor energético e nutricional. O alto teor de lipídios classifica o açaí como uma emulsão de óleo em água (ROGEZ, 2000; ALEXANDRE, CUNHA e HUBINGER, 2004).

Cabe ressaltar que não somente o valor de lipídeos totais, mas também o perfil em ácidos graxos é igualmente interessante. A fração lipídica do açaí é composta por ácidos graxos insaturados (73,9%), principalmente ácido oleico (56,2%), seguido por ácido linoleico (11,5%) e linolênico (0,8%). Os principais ácidos graxos saturados são os ácidos palmítico (24,1%) e esteárico (1,6%) (ROGEZ, 2000; SCHAUSS *et al.*, 2006; NASCIMENTO *et al.*, 2008). Em um estudo realizado por Schirmann (2009), frutos de *Euterpe edulis* mostraram valor superior de ácidos graxos insaturados (72,2%) em relação aos frutos de *Euterpe oleracea* estudados por Nascimento *et al.* (2008) (68,16%) e Rogez (2000) (67,5%). Dentre os ácidos graxos insaturados encontrados, a autora destaca o ácido graxo oleico e o linoleico. O açaí de *Euterpe edulis* pode ser considerado uma excelente fonte de ácidos graxos insaturados essenciais na dieta humana, entretanto, o alto teor dessa fração lipídica favorece a rápida oxidação e rancificação da polpa de juçara (ROGEZ, 2000).

O açaí é um alimento pouco ácido (pH em torno de 5,8) e de baixo valor glicêmico, com teores de açúcares assimiláveis (glicose, frutose e sacarose) entre 2,96% a 3,55% da matéria seca (ROGEZ, 2000; ALEXANDRE, CUNHA e HUBINGER, 2004). Em um estudo de caracterização química do açaí (*Euterpe oleracea*), Schauss *et al.* (2006) estimaram que a quantidade de açúcares totais é de 52,2 g/100 g de peso seco, sendo glicose, frutose e maltose os principais açúcares encontrados nessa fruta.

Silva, Barretto e Serôdio (2004) realizaram um estudo comparativo da composição química de frutos de *Euterpe oleracea* e *Euterpe edulis*. Frutos de juçara apresentaram teores de açúcares totais (1,21 g/100 g de peso seco) e lipídios (13,78 g/100 g de peso seco) superiores aos do açaí (1,02 g/100 g de peso seco para proteína e 13,09 g/100 g de peso seco para lipídios), resultando em maior valor energético para a

polpa de juçara. Os autores também afirmam que a juçara possui elementos minerais em quantidades próximas ou, para alguns elementos, superiores às do açaí, a exemplo do potássio, ferro e zinco. De maneira geral, Saavedra (2008) afirma que o fruto de juçara (*Euterpe edulis*) possui grande similaridade composicional e sensorial com o açaí (*Euterpe oleracea*), e tem sido apontado como uma fonte de macro nutrientes e uma das mais ricas fontes de substâncias fenólicas, capaz de competir nutricional e comercialmente com um produto que se tornou um símbolo brasileiro.

7. COMPOSTOS FENÓLICOS EM AÇAÍ: PROPRIEDADE FUNCIONAL

Há mais de duas décadas, frutos do gênero *Euterpe* têm sido objeto de considerável interesse científico e terapêutico por apresentar alto teor de compostos fenólicos e notável capacidade antioxidante. Na literatura, os primeiros estudos são reportados por Iaderoza *et al.* (1992), que realizaram a extração de antocianinas a partir dos frutos de *Euterpe oleracea* e *Euterpe edulis*. Estes autores mostraram que o conteúdo em antocianinas totais dos frutos do palmito (*Euterpe edulis*) é quatro vezes superior ao do açazeiro (*Euterpe oleracea*) do norte do Brasil, e relataram a presença de cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo como as principais antocianinas em ambas as espécies, entretanto, não quantificaram cada uma delas. Esses resultados foram corroborados por Harborne *et al.* (1994), que identificaram a cianidina-3-glucosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, como as duas principais antocianinas em frutos de *Euterpe edulis*. Bobbio *et al.* (2000) determinaram o teor de antocianinas totais em frutos de *Euterpe oleracea* (263 mg/100g de polpa) e identificaram cianidina-3-arabinosídeo e cianidina-3-arabinosil-arabinosídeo como as duas principais antocianinas dos frutos do açaí por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC).

Um estudo da composição fenólica dos frutos de *Euterpe oleracea* foi feito por Del Pozo-Insfran, Brenes e Talcott (2004). Por meio de HPLC, estes autores quantificaram cianidina 3-glicosídeo (104 mg/100 g de polpa), pelargonidina 3-glucosídeo (7,44 mg/100 g de polpa) e outros quinze compostos, sendo treze ácidos fenólicos e dois flavonóides. Gallori *et al.* (2004) identificaram e quantificaram os flavonóides homorientina, orientina, taxifolina e isovitexina (total de 3,5 mg/g de polpa seca) em açaí provenientes do Belém do Pará e confirmaram cianidina 3-glicosídeo e cianidina 3-rutinosídeo (total de 0,5 mg/g de polpa seca) como as principais

antocianinas nesse fruto. Em um estudo realizado com açaí de *Euterpe oleracea*, Lichtenthäler *et al.* (2005) identificaram cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo e peonidin-rutinosídeo, e outros compostos fenólicos como o ácido protocatecuico, catequina, dímeros, trímeros e tetrâmeros de procianidina, como também quercetina-rutinosídeo.

Um estudo utilizando sistema HPLC-PDA-MS/MS identificou cinco antocianinas em frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) liofilizado: cianidina 3-sambubiosídeo (40 mg/100 g), cianidina 3-glicosídeo (117 mg/100 g), cianidina 3-rutinosídeo (193 mg/100 g), peonidina-3-glucosídeo (20 mg/100 g) e peonidina-3-rutinosídeo (40 mg/100 g), sendo o conteúdo total de antocianinas de 319 mg/100 g de açaí liofilizado (SCHAUSS *et al.*, 2006). Utilizando metodologia similar, Brito *et al.* (2007) relataram seis antocianinas em frutos liofilizados de juçara (*Euterpe edulis*): cianidina 3-sambubiosídeo (13 mg/100 g), cianidina 3-glicosídeo (1358 mg/100 g), cianidina 3-rutinosídeo (1565 mg/100 g), pelargonidin 3-glicosídeo (8 mg/100 g), pelargonidin 3-rutinosídeo (5 mg/100 g) e cianidina 3-ramnosídeo (7 mg/100 g), totalizando 2956 mg mg/100 g de polpa de juçara liofilizada.

Rosso *et al.* (2008) quantificaram antocianinas totais (282,5 mg/100 g) em polpa congelada de açaí proveniente do Estado do Pará, e utilizando HPLC-PDA-MS/MS identificaram cianidina 3-glicosídeo (37,39 mg/100 g) e cianidina 3-rutinosídeo (245,21 mg/100 g). Compostos em menores quantidades foram identificados como cianidina-3-sambubiosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-ramnosídeo e pelargonidina-3-rutinosídeo.

Em um estudo, Borges *et al.* (2011) avaliando o conteúdo em antocianinas totais de juçara provenientes de cinco diferentes regiões de Santa Catarina (Barra Velha, Garuva, Luís Alves, Parque e Urussanga), encontraram valores que variaram de 14,84 a 409,85 mg cianidina 3- glicosídeo/100 g de fruto fresco. Os autores afirmam ainda que a radiação solar teve um efeito positivo sobre a síntese de antocianinas, já que os frutos colhidos no verão apresentaram maior conteúdo de antocianinas e maior capacidade antioxidante que os frutos colhidos no inverno.

Dados da literatura demonstram importante ação antioxidante do açaí, e sinalizam as possibilidades de classificá-lo como um alimento funcional. De acordo com Del Pozo-Insfran, Brenes e Talcott (2004), as antocianinas são os componentes que mais contribuem para a ação antioxidante do açaí. Utilizando o índice ORAC (acrônimo para *Oxygen Radical Absorbance Capacity*, ou capacidade de absorção do radical

oxigênio), estes autores encontraram atividade antioxidante (48,6 μmol de atividade antioxidante equivalentes a Trolox (TEAC)/g) superior a outras frutas como morango (18,3 a 22,9 μmol TEAC/g), framboesa (19,2 a 22,6 μmol TEAC/g) e amora (13,7 a 25,1 μmol TEAC/g)

Schauss *et al.* (2006) prepararam extratos com diferentes polaridades a partir do açaí liofilizado e avaliaram a atividade antioxidante por meio do método ORAC. Os autores encontraram 997 μmol TEAC/g na fração hidrofílica e 30 μmol TEAC/g na fração lipofílica, sendo 1027 μmol TEAC/g a capacidade antioxidante total. Valores superiores foram obtidos por Kang *et al.* (2012) para o açaí liofilizado, 1792,3 μmol TEAC/g na fração hidrofílica e 36,1 μmol TEAC/g na fração lipofílica.

Duarte-Almeida *et al.* (2006) avaliaram a atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico e encontraram maior percentagem de inibição para o açaí (*Euterpe oleracea*), quando comparado à acerola, morango e amora. Outros estudos também demonstraram a capacidade antioxidante do açaí utilizando diferentes metodologias como indução por cobre, peroxidação de lipossomas e inibição da co-oxidação do ácido linoleico e sistema β -caroteno (SCHAUSS *et al.*, 2006).

Estudos *in vivo* comprovam os resultados obtidos em experimentos *in vitro* e apontam uma relação inversa entre o consumo de frutas e vegetais e a incidência de doenças degenerativas (RAHIMI *et al.*, 2005; LOBO *et al.*, 2010; BENNETT, ROJAS e SEEFELDT, 2012). O potencial dos flavonóides em reduzir a ocorrência de doenças cardiovasculares e câncer é normalmente explicado pelos efeitos biológicos como antioxidantes (FIANDER e SCHNEIDER, 2000; DISILVESTRO, 2001), antiestrogênicos (MIKSICEK, 1995) e inibidores da proliferação celular (KUNTZ, WENZEL e DANIEL, 1999; WENZEL *et al.*, 2000).

Os efeitos benéficos dos compostos fenólicos encontrados em frutos de *Euterpe oleracea* e *Euterpe edulis* têm sido associados ao aumento do potencial antioxidante no plasma e na proteção vascular do organismo humano. A polpa de açaí demonstrou importante papel como inibidor das enzimas mediadoras de processos inflamatórios e cancerígenos em células cerebrais de ratos (POULOSE *et al.*, 2012). Extrato de açaí (*Euterpe oleracea*) rico em antocianinas induziu a apoptose das células de glioma C6 em ratos (HOGAN *et al.*, 2010) e células HL-60 de leucemia humana (DEL POZO-INSFRAN, PERCIVAL e TALCOTT, 2006). Borges *et al.* (2013) demonstraram o potencial antiproliferativo de extrato de juçara (*Euterpe edulis*) contra células Vero –

linhagem celular estabelecida a partir de células epiteliais renais de macaco verde da África (*Cercopithecus aethiops*).

8. COMPOSTOS FENÓLICOS

As plantas sintetizam uma diversidade de compostos orgânicos que são tradicionalmente classificados como metabólitos primários e secundários. Metabólitos primários são compostos produzidos por todas as plantas e que desempenham funções essenciais, tais como a fotossíntese, a respiração, o crescimento e o desenvolvimento. Estes incluem fitoesteróis, nucleotídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos, entre outros. Em contrapartida, os metabólitos secundários são estruturalmente diversos e muitos são distribuídos em um número limitado de espécies no reino vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2004). Os compostos do metabolismo secundário têm funções ecológicas importantes nos vegetais contra ataque de patógenos, herbívoros e radiação ultravioleta; atuam também na sinalização e na atração de insetos polinizadores e dispersores de semente, bem como agentes na competição planta-planta (PICHERSKY e GANG, 2000).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais: i) terpenóides/isoprenóides, ii) flavonóides, compostos fenólicos e polifenólicos, e iii) compostos contendo nitrogênio e enxofre, como alcalóides e glucosinolatos, respectivamente (CROZIER, JAGANATH e CLIFFORD, 2006). Os compostos secundários são produzidos por vias biossintéticas diferentes daquelas dos metabólitos primários, incluindo a glicólise, o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), vias dos aminoácidos alifáticos e aminoácidos aromáticos, via das pentoses e via do ácido chiquímico (AHARONI e GALILI, 2011).

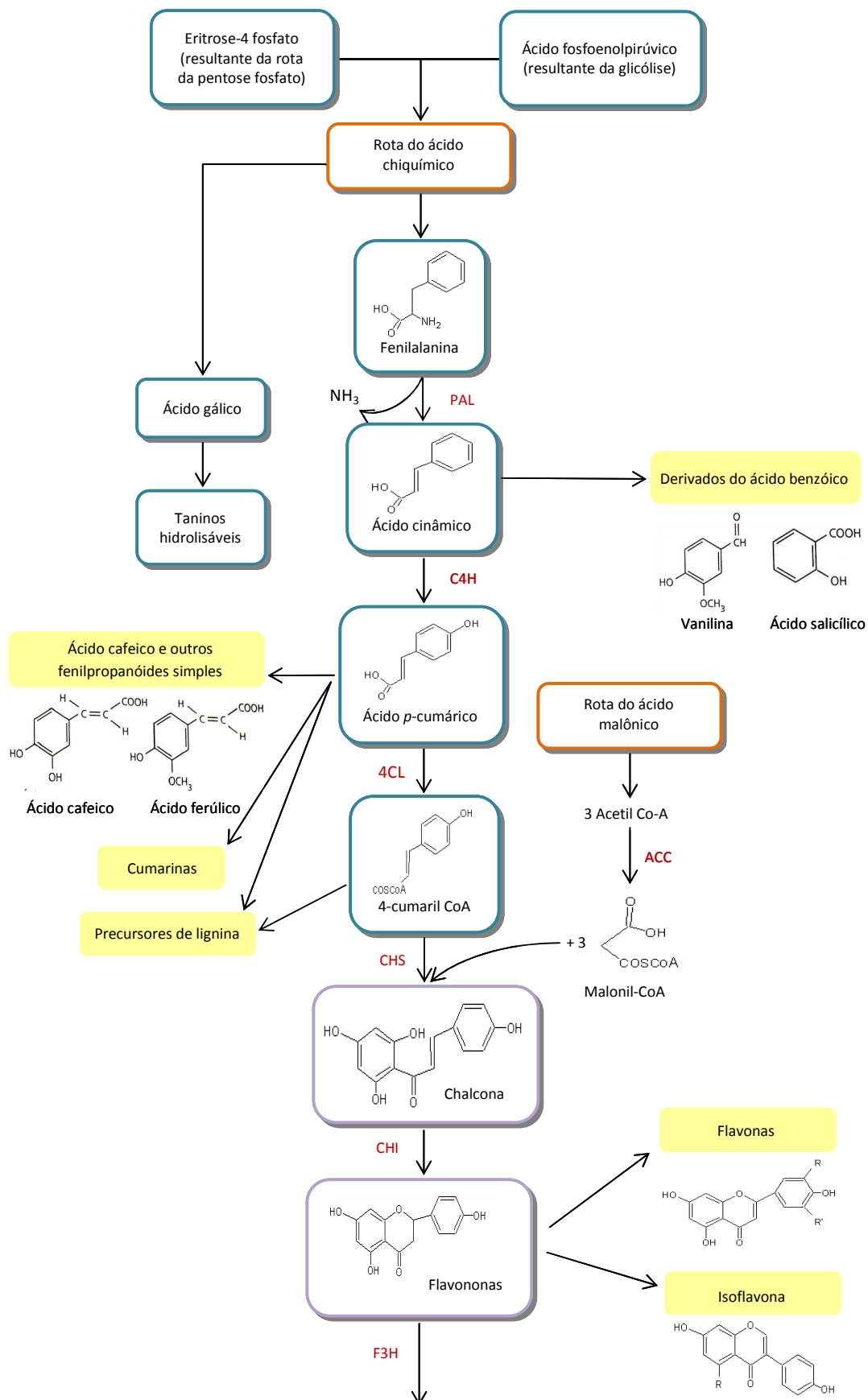
Os flavonóides estão amplamente distribuídos no reino vegetal e constituem uma parte importante da dieta humana. A descoberta do primeiro composto se deu por volta de 1930 quando uma mistura de flavonóides isolados a partir de laranjas, designado como vitamina P, favoreceu a atividade biológica do ácido ascórbico. Quando se tornou claro que esta substância era um flavonóide (rutina), muitos estudos iniciaram na tentativa de isolar flavonóides individuais e estudar o mecanismo pelo qual eles atuam (KÜHNAU, 1976; NIJVELDT *et al.*, 2001). Desde então, cerca de 9.000 flavonóides foram identificados em plantas (WOO, JEONG e HAWES, 2005).

Além de favorecer uma variada coloração em flores, sementes e folhas para atrair polinizadores e disseminadores de sementes, os flavonóides atuam também na

sinalização entre plantas e micróbios, na fertilidade de algumas espécies, na defesa como agentes antimicrobianos e na proteção à radiação UV (WINKEL-SHIRLEY, 2001; DIXON *et al.* 2002). Na saúde humana, os flavonóides apresentam atividade antioxidante como seqüestrador de espécies reativas de oxigênio (COOK e SAMMAN, 1996).

8.1. Biossíntese de compostos fenólicos

Metabólitos secundários compreendem a classe de compostos produzidos pelas plantas superiores, e são parte essencial na adaptação da vida vegetal em um ambiente adverso e inconstante. Sendo assim, os compostos fenólicos variam dentro da própria planta, geneticamente entre indivíduos e podem variar ao longo de uma estação ou em anos sucessivos (BROOKS e FEENY, 2004). Os compostos fenólicos são originados basicamente por duas rotas bioquímicas diferentes, seja pela via do chiquímico ou pela via do acetato/malonato (**FIGURA 1.3**). A rota do ácido chiquímico é iniciada com a condensação de fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato, para a formação de ácido chiquímico (HERRMAN e WEAVER, 1999). A partir deste composto forma-se corismato, molécula precursora dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano (TAIZ e ZEIGER, 2004). A chalcona sintase é a enzima que catalisa a formação da chalcona intermediária básica, da qual todos os flavonóides são formados, pela condensação de três moléculas de malonil-CoA com uma molécula de 4-cumaril-CoA. Além do 4-cumaril-CoA, que é o principal substrato fisiológico para formação das chalconas, a chalcona sintase de algumas espécies de plantas aceita como substratos o cafeoil-CoA ou o feruloil-CoA. O substrato éster da CoA do ácido cinâmico vem da fenilalanina. A fenilalanina amônio liase canaliza o esqueleto C6-C3 da fenilalanina via o ácido *trans*-cinâmico pelo metabolismo fenilpropanóides. A introdução da função hidróxi na posição 4 do ácido *trans*-cinâmico é catalizada pela cinamato 4-hidroxilase, fornecendo o *p*-coumarato. O ácido hidróxi-cinâmico é ativado para futuras reações, pela formação de um éster da CoA (4-coumaroil-CoA), substrato preferido pela chalcona sintase. O segundo substrato da chalcona sintase, o malonil-CoA, é sintetizado da acetil-CoA e CO₂. Através de subseqüentes hidroxilações e reduções, as plantas sintetizam as diferentes classes dos flavonóides (ROBARDS e ANTOLOVICH, 1997; WINKEL-SHIRLEY, 2001; DIXON *et al.*, 2002).



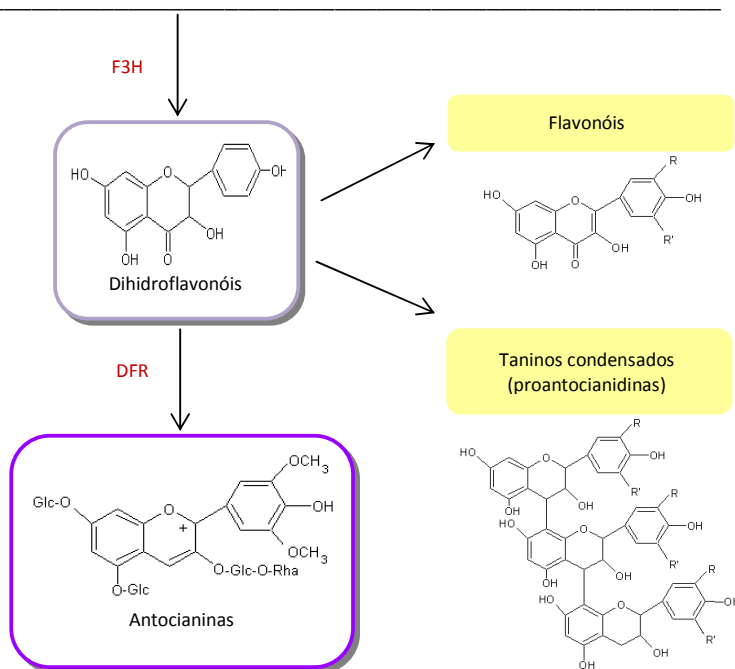


FIGURA 1.3 – Esquema geral da via biossintética dos flavonóides. As enzimas são: acetil-CoA carboxilase (ACC); cinamato-4-hidroxilase (C4H); chalcona isomerase (CHI); chalcona sintase (CHS); 4-cumaril:CoA ligase (4CL); dihidroflavonol 4-redutase (DFR); fenilalanina amonialiase (PAL); flavanona 3-hidroxilase (F3H).

Fonte: Adaptado de Taiz e Zeiger (2004).

8.2. Antocianinas: estrutura e características

A cor violácea intensa dos frutos de juçara se deve à presença de pigmentos naturais chamados de antocianinas. As antocianinas (do grego, *anthos* = flor e *kianos* = azul) pertencem ao grupo dos flavonóides e constitui a classe mais importante de pigmentos hidrossolúveis, o que torna interessante sua incorporação em produtos alimentícios aquosos. São compostos responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul observadas nos vegetais. Por colorir flores e frutos, as antocianinas são de importância vital como atrativo para polinizadores e dispersores de sementes (TAIZ e ZEIGER, 2004; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

8.2.1. Estrutura

Antocianinas são compostos heterocíclicos que apresentam a estrutura básica - C₆-C₃-C₆- e a mesma origem biossintética de outros flavonóides (WINKEL-SHIRLEY, 2001). No entanto, diferem destes porque são capazes de absorver fortemente luz na

região do visível, e consequentemente exibem variadas cores entre laranja, vermelho, purpura e azul, dependendo do meio em que se encontram (MARKAKIS, 1982).

Quimicamente, antocianinas são derivados glicosilados de antocianidinas, cuja estrutura fundamental é o cátion flavílico (2-fenilbenzopirilium) (**FIGURA-1.4A**), onde o anel A é derivado do ciclo acetato malonato e o anel B é derivado da fenilalanina e, as substituições do anel heterocíclico oxigenado C resultam em classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (catequinas), isoflavonas, antocianinas e antocianidinas. As antocianidinas não apresentam glicosídeos, mas apresentam hidroxilas nas posições 3, 5 e 7. Já nas antocianinas, uma ou mais destas hidroxilas estão ligadas a açúcares (**FIGURA-1.4B**) (MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008). As principais diferenças entre as várias antocianinas encontradas no reino vegetal são o número de grupos hidroxila, a natureza e número de açúcares ligados à molécula, a posição desta ligação, a natureza e o número de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados a moléculas de açúcar. Apenas seis antocianidinas (agliconas nas antocianinas) são comumente encontradas em frutas: pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina e delphinidina (KONG *et al.*, 2003).

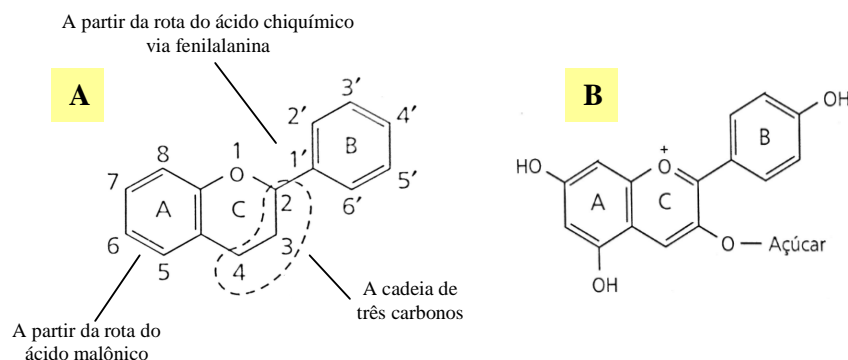


FIGURA 1.4 – As estruturas das antocianidinas (A) e antocianinas (B).

Fonte: Taiz e Zeiger (2004).

Os açúcares comumente encontrados ligados a antocianidina são glicose, ramnose, galactose, arabinose, xilose, di e trissacarídeos formados como glicosídeos desses açúcares. Os ácidos mais envolvidos na acilação dos açúcares são os ácidos aromáticos, como os *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico, gálico ou *p*-hidroxibenzóico e/ou os alifáticos, como ácido malônico, acético, málico, sucínico ou oxálico (MAZZA e MINIATI, 1993). O açúcar presente nas moléculas de antocianinas confere maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos, quando comparados com as

antocianidinas (HARBORNE, 1977). Embora a ligação glicosídica possa ser feita nos carbonos 3, 5, 7, 3' e 5', ela ocorre mais frequentemente no C₃ (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

8.2.2. Estabilidade de antocianinas

Apesar de seu valor como corante natural de alimentos, as antocianinas são pigmentos relativamente instáveis. Vários fatores do processamento e do armazenamento de alimentos podem levar à degradação das antocianinas. É bem conhecido que fatores tais como pH, temperatura, luz, oxigênio, enzimas e interações entre os componentes dos alimentos, como ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos, podem influenciar tanto na cor quanto na estabilidade das antocianinas (MARKAKIS, 1982; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

Em geral, antocianinas são mais estáveis em soluções ácidas do que em neutras e alcalinas. O aumento da hidroxilação diminui a estabilidade, enquanto o aumento de metilação aumenta a estabilidade. Em meio aquoso, incluindo alimentos, as antocianinas podem ocorrer sob quatro formas estruturais, dependendo do pH: cátion flavílico, base quinoidal, pseudobase carbinol e chalcona (**FIGURA 1.5**). De modo geral, em meio extremamente ácido (pH 1), as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada com predomínio da forma de cátion flavílico. Com o aumento do pH (pH entre 2–4), ocorre a perda do próton para produzir a forma quinoidal, de coloração azul ou violeta. Paralelamente, a hidratação do cátion flavílico gera a pseudo base incolor ou pseudobase carbinol que atinge o equilíbrio com a chalcona incolor. Em valores de pH acima de 6,0, tanto a estrutura pseudobase carbinol quanto anidrobases quinoidais podem formar a espécie *cis*-chalcona. A formação desta ocorre com a ruptura do anel heterocíclico o que, dependendo do tipo de antocianina, pode tornar a reação irreversível (MARÇO, POPPI e SCARMINIO, 2008; CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009; DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

O aquecimento é um fator que acelera a degradação das antocianinas durante o processamento e estocagem dos alimentos. Em geral, as características estruturais que conduzem ao aumento de estabilidade do pH também levam ao aumento da estabilidade térmica. O aquecimento desloca o equilíbrio para a forma chalcona, enquanto as formas estruturais do cátion flavílico e da base quinoidal diminuem. Embora o mecanismo

ainda não tenha sido elucidado, a degradação parece estar relacionada com a quebra do anel heterocíclico da pseudobase com formação da chalcona, seguida da formação de produtos de degradação de coloração marrom (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

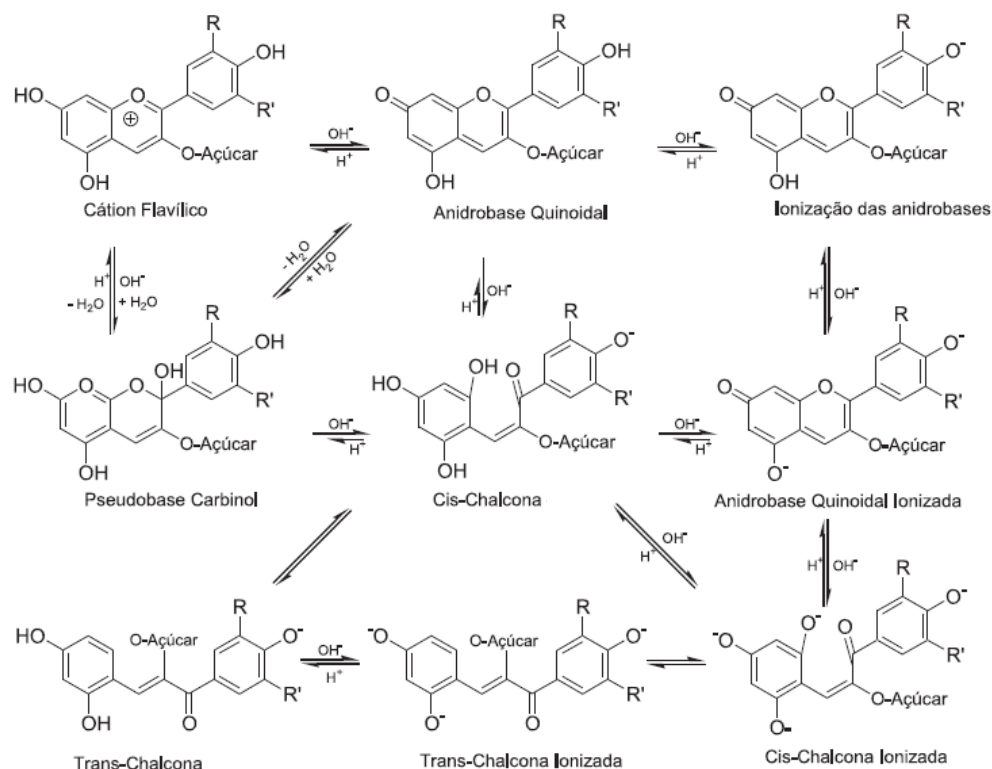


FIGURA 1.5 – Possíveis transformações estruturais das antocianinas em meio aquoso em função do pH

Fonte: Adaptado de Março, Poppi e Scarminio (2008).

A luz tem influência tanto na biossíntese como na degradação das antocianinas. A degradação é mais intensa quando o fator luz é combinado com o efeito do oxigênio. O oxigênio e o peróxido de hidrogênio podem facilmente oxidar antocianinas, mesmo na ausência de luz, em todos os valores de pH, sendo que tal mecanismo, muitas vezes, é acelerado pela presença de ácido ascórbico (MARKAKIS, 1982). O impacto negativo do ácido ascórbico em antocianinas tem sido motivo de grande preocupação devido à universalidade de tal ácido em frutas e sucos derivados de vegetais (FRANCIS, 1989).

Um alto teor de açúcar pode afetar a taxa de destruição das antocianinas, sendo que o efeito do carboidrato sobre a estabilidade das antocianinas depende principalmente da estrutura do pigmento, concentração e tipo de açúcar (DELGADO-

VARGAS e PAREDES-LÓPEZ, 2003). Wrolstad *et al.* (1990) verificaram que a adição de sacarose melhorou as características de cor de morangos congelados, entretanto, o mecanismo pode estar associado principalmente à inibição de enzimas como polifenoloxidasas e peroxidases (DELGADO-VARGAS e PAREDES-LÓPEZ, 2003).

As enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas, tais como glicosidasas, polifenoloxidasas e peroxidases também degradam antocianinas (FRANCIS, 1989). O anidrido sulfuroso e os sulfitos utilizados na conservação de alimentos a base de frutas produzem efeito descolorante sobre as antocianinas (DERGAL, 1993). Diferentes íons metálicos polivalentes interagem com antocianinas que contêm hidroxilas na posição orto, produzindo alteração na cor do pigmento para azul (MARKAKIS, 1982).

Em meio aquoso as antocianinas formam complexos com numerosos compostos tais como proteínas, taninos, flavonóides não-antociânicos, ácidos orgânicos, ácidos nucleicos, alcalóides, polissacarídeos e íons metálicos por meio de copigmentação intermolecular, resultando em um sensível aumento na estabilidade das antocianinas (BROUILLARD, 1982; STRINGHETA e BOBBIO, 2000).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da riqueza de conhecimentos atualmente disponíveis sobre as antocianinas, estes compostos continuarão sendo alvos de investigações. Antocianinas são compostos que apresentam características delicadas, mas importantes ações em processos que ocorrem nos organismos, com diversos benefícios para a saúde como agentes anti-inflamatórios e até antitumorais em alguns casos específicos, o que vem sendo, incessantemente, estudado por pesquisadores de diferentes áreas do conhecimento científico. As pesquisas sobre o processo de sua degradação e estabilidade certamente serão continuadas com o intuito de esclarecer as aplicações industriais e tecnológicas de uso desses pigmentos.

Frutos de juçara (*Euterpe edulis*) têm se mostrado fonte potencial de antocianinas e antioxidantes, no entanto, a avaliação da biodisponibilidade destes compostos junto com a composição fenólica deve ser ainda ampliada. As pesquisas sobre seu papel na saúde humana certamente serão continuadas com o intuito de esclarecer pontos controversos. Os efeitos de processamento desses frutos, principalmente com tecnologias emergentes, devem ser complementados.

CAPÍTULO 2

ANTOCIANINAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ANTOCIÂNICO DE FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.)

O conteúdo desse capítulo faz parte do artigo aceito para publicação na Plant Foods for
Human Nutrition

ANTOCIANINAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ANTOCIÂNICO DE FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.)

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, TRUST BETA², ROSEMARY
HOFFMAN RIBANI¹

1. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
2. Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade de Manitoba, Winnipeg, Canadá.

RESUMO

Frutos de juçara (*Euterpe edulis* M.) podem ser utilizados devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos e às suas propriedades antioxidantes. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do estágio de maturação no perfil de antocianinas e a atividade antioxidante dos extratos antociânicos de frutos de juçara colhidos entre os meses de março e junho na cidade de Antonina, Paraná. Foram determinados o conteúdo de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, pelos métodos de DPPH e ORAC. Durante o período de colheita, o teor de compostos fenólicos totais diminuiu (81,69–49,09 mg ácido gálico/g de polpa liofilizada) e o conteúdo de antocianinas totais aumentou (91,52–236,19 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de polpa liofilizada). A atividade antioxidante do extrato também aumentou (DPPH: 655,89–703,32 μ mol Trolox/g de polpa liofilizada e ORAC: 1088,10–2071,55 μ mol Trolox/g de polpa liofilizada) durante o amadurecimento. Antocianinas foram separadas e identificadas por meio de HPLC-MS/MS. O uso de espectrometria de massa em tandem permitiu a identificação de cianidina 3, 5- diglicosídeo, peonidina 3-glicosídeo e peonidina 3-rutinosídeo pela primeira vez em frutos de juçara. Estes resultados sugerem que a atividade antioxidante de frutos de juçara está mais relacionada ao acúmulo de antocianinas, do que ao decréscimo de fenólicos totais.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis* M., estágio de maturação, antocianinas, atividade antioxidante.

**ANTHOCYANINS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ANTHOCYANIN
EXTRACT FROM JUÇARA FRUIT (*Euterpe edulis* M.)**

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, TRUST BETA², ROSEMARY
HOFFMAN RIBANI¹

1. Graduate Program in Food Engineer, Chemical Engineering Department, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil.
2. Department of Food Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.

ABSTRACT

Juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) can be used for their high content of phenolic compounds and antioxidant properties. The objective of this study was to evaluate the influence of maturity stage on anthocyanin profile and antioxidant properties of anthocyanin extract from juçara fruits harvested between March and June as practiced in Antonina city, Parana. Anthocyanin content, total phenolic content and antioxidant activities, by DPPH and ORAC methods, were determined. During harvesting time, the total phenolic content decreased (81.69–49.09 mg Gallic acid/g lyophilized pulp) and total anthocyanin content increased (91.52–236.19 mg de cyanidin 3-*O*-glucoside/100g lyophilized pulp). The antioxidant activities also increased (DPPH: 655,89–703,32 µmol Trolox/g lyophilized pulp e ORAC: 1088,10–2071,55 µmol Trolox/g lyophilized pulp) during fruit ripening. Anthocyanins were separated and identified by HPLC-MS/MS. Use of tandem mass spectrometry allowed the identification of cyanidin 3, 5-diglucoside, peonidin 3-glucoside and peonidin 3-rutinoside for the first time in juçara fruits. Our results suggest that anthocyanins may be a major contributor to the antioxidant activity in juçara fruits in addition to other phytochemicals.

Keywords: juçara, *Euterpe edulis* M., maturity stage, anthocyanins, antioxidant activity.

1. INTRODUÇÃO

Juçara (*Euterpe edulis* Martius, Arecaceae) é uma palmeira encontrada principalmente nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Bahia (HENDERSON, 2000; LORENZI *et al.*, 2004). Nativa da Mata Atlântica brasileira, juçara é a palmeira da qual se extrai o palmito, um dos principais produtos florestais não madeiráveis deste ecossistema. Porém, por ser uma palmeira unicaule, não rebrota na base e o corte do palmito implica na morte da planta. Devido à extração clandestina do palmito, chegou a ser quase extinta do seu habitat natural e atualmente é um componente escasso da floresta (BRASIL, 2008; SEMA, 2010).

Na cadeia alimentar do ecossistema florestal, a palmeira juçara é de grande importância ecológica, pois apresenta elevados níveis de interação com os animais e desempenha um papel fundamental na nutrição da fauna da Mata Atlântica, uma vez que seu fruto serve de alimento para aves e mamíferos, como morcegos, primatas e roedores (REIS e KAGEYAMA, 2000; CARVALHO, 2003). Nos últimos anos, os institutos ambientais brasileiros (IAPAR¹; Rede Juçara²) têm desenvolvido políticas de utilização sustentável da palmeira juçara, cujo foco é facilitar o progresso na produção e comercialização de polpa de fruta e produção de sementes para o reflorestamento e preservação da espécie *Euterpe edulis* na Mata Atlântica.

Quando o palmito não é retirado, a palmeira frutifica e produz uma fruta não climatérica, redonda e de polpa roxa, que cresce em cachos e tem um epicarpo que cobre uma semente dura. As bagas são pequenas, cerca de 1 a 1,5 cm de diâmetro, com as sementes que constituem 85% do fruto. Durante a maturação, o epicarpo evolui de verde para roxo escuro ou quase preto.

Apesar de sua ampla distribuição no Brasil, juçara é muito menos conhecido do que o fruto da palmeira do mesmo gênero *Euterpe*, o açai (*Euterpe oleracea*) (BRITO *et al.*, 2007). Atualmente os frutos juçara (*Euterpe edulis*) são utilizados para o processamento e fabricação de polpa, o qual é preparado por maceração dos frutos em água, seguido de trituração para extrair a polpa amolecida através da adição de água, com posterior filtração do suco (POMPEU, SILVA e ROGÉZ, 2009).

¹ Instituto Agrônomo do Paraná: <http://www.iapar.br/>

² Rede juçara: <http://www.redejucara.org.br/site/>

O açáí é geralmente consumido como alimento na forma de um suco viscoso que tem sido associado com benefícios nutricionais e medicinais (PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2008). Apresenta altas concentrações de compostos bioativos como antocianinas (principalmente cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo) e outros flavonóides (GALLORI *et al.*, 2004; SCHAUSS *et al.*, 2006; ROSSO *et al.*, 2008; POMPEU e ROGEZ, 2009). Esses componentes foram associados à alta atividade antioxidante desta fruta.

A melhor caracterização da composição fenólica e das propriedades antioxidantes dos frutos de juçara durante o período de amadurecimento deverá auxiliar de maneira significativa na determinação do ponto ótimo de colheita e na escolha das tecnologias mais apropriadas para a colheita e o processamento dos frutos. Além disso, deverá contribuir no aumento do apelo comercial destes frutos e, conseqüentemente, no interesse da indústria alimentícia em sua utilização. Diante disso, cabe ressaltar o aumento na rentabilidade de pequenos produtores, que são responsáveis pela maior parte da produção destes frutos.

Nesse sentido, os objetivos deste estudo foram identificar e quantificar antocianinas, e também determinar o teor de compostos fenólicos totais e as atividades antioxidantes de extratos antociânicos de frutos de juçara colhidos em seis diferentes estádios de maturação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Os frutos de juçara (*Euterpe edulis*) foram coletados na estação experimental do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em Antonina, Paraná (localização 25° 28' 37'' S e 48° 50' 04'' O) entre os meses de março a junho do ano de 2012. Frutos de juçara são não climatéricos e nunca são colhidos verdes, sendo que a colheita é iniciada após a primeira aparição de frutos coloridos no cacho. Sendo assim, os estádios de maturação dos frutos foram estabelecidos de acordo com as mudanças de cor da casca e percentagem de frutos nos cachos em cada colheita, considerando a prática experimental dos técnicos do IAPAR no momento das colheitas. Sendo assim, seis colheitas foram realizadas e os frutos foram classificados em três estádios de maturação, conforme mostra a **TABELA 2.1**.

TABELA 2.1 – Colheitas, estádios de maturação e coloração dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*)

Denominação	Abreviação	Data de colheita	Estádio de amadurecimento/Coloração	
Colheita 1	C1	29 de março de 2012	Inicial/Violeta	
Colheita 2	C2	12 de abril de 2012	Intermediário/Roxo	
Colheita 3	C3	26 de abril de 2012	Intermediário/Roxo	
Colheita 4	C4	10 de maio de 2012	Intermediário/Roxo	
Colheita 5	C5	24 de maio de 2012	Final/Roxo escuro	
Colheita 6	C6	7 de junho de 2012	Final/Roxo escuro	

Fonte: O autor (2014).

Os frutos de cada colheita foram processados separadamente. Depois de colhidos, os frutos sadios foram lavados em água clorada (50 mg/L de cloro ativo) e despulpados mecanicamente com adição de cerca de 0,6 L de água/kg de fruto. Então, a polpa foi colocada em sacos de polietileno, com espessura de 40 µm, imediatamente congelada a -18°C , e posteriormente liofilizada. As amostras liofilizadas foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno (espessura de 40 µm) recobertos com papel alumínio para evitar a entrada de luz, e transportadas até o Laboratório de Carboidratos e Cereais da Universidade de Manitoba, Canadá, onde foram analisadas.

Antes do procedimento de extração dos compostos fenólicos, as amostras liofilizadas foram desengorduradas com hexano (3x10 ml) utilizando um sonicador por 30 min, seguida de centrifugação a $8,500 \times g$ (RC6⁺ Sorvall Instruments, Newtown, CT, U.S.A.) por 15 min a 20°C . Também, o conteúdo de umidade das amostras em pó foi determinado segundo a metodologia oficial (AOAC, 925.10, 2003)

2.2. Padrões e solventes

Reagente fenólico de Folin-Ciocalteu; 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox); 2,2'-azo-bis(2-

amidinopropano) (AAPH); ácido gálico; ácido fórmico e metanol grau HPLC, e padrões de antocianinas (cianidina 3-O-glicosídeo ($\geq 98\%$) e cianidina 3-O-rutinosídeo ($\geq 98\%$)) foram adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, E.U.A.).

2.3. Dados climáticos

Dados climáticos (precipitação, radiação solar, temperatura e umidade relativa) da região de Antonina, Paraná correspondente aos meses de março a junho de 2012 foram fornecidos pelo Instituto Tecnológico Simepar, unidade Curitiba.

2.4. Preparo do extrato antociânico

Para a extração de antocianinas, as amostras de polpas liofilizadas foram moídas em um pó fino ($<0,5$ mm). A escolha das condições de extração foi baseada em ensaios preliminares usando diferentes solventes e diferentes tempos de extração baseados em dados de literatura. Assim, três extrações sucessivas foram realizadas a fim de avaliar a eficiência de extração utilizada nesse estudo. Brevemente, 15 mL de metanol 1 mol/L HCl (85:15, v/v) foram adicionados a 1,0 g de polpa moída. A extração foi realizada sob agitação mecânica (Shaker G-33 New Brunswick Scientific, Enfield, CT, E.U.A.) por 30 minutos a temperatura ambiente, na ausência de luz. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a $3,500 \times g$ (RC6⁺ Sorvall Instruments, Newtown, CT, E.U.A.) por 30 minutos a 12°C. O sobrenadante foi separado e usado como extrato bruto para determinação do conteúdo fenólico total, conteúdo de antocianinas e atividade antioxidante, e também para a análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas em *tandem* (HPLC-MS/MS).

2.5. Análise de antocianinas totais

Antocianinas monoméricas totais foram quantificadas pelo método espectrofotométrico de diferença de pH (LEE, DURST e WROLSTAD, 2005). Brevemente, uma alíquota do sobrenadante foi diluída (1:30) com tampão cloreto de potássio 0,025 mol/L, pH 1,0. A leitura da absorbância foi realizada a 510 nm, considerando a absorbância máxima para cianidina 3-O-glicosídeo, e a 700 nm para descontar a turbidez da amostra. Outra alíquota da amostra foi diluída com a mesma proporção em solução tampão acetato de sódio 0,4 mol/L, pH 4,5, e as leituras

realizadas nos mesmos comprimentos de onda. O teor de antocianinas monoméricas totais foi calculado usando-se a Equação 1:

$$\text{Antocianinas monoméricas totais} = A \times \text{PM} \times 1000 / (\epsilon \times C) \text{ (Equação 1)}$$

Onde A = absorbância ($A_{510} - A_{700}$)_{pH 1,0} - ($A_{510} - A_{700}$)_{pH 4,5}; PM = peso molecular da cianidina-3-glicosídeo = 490; ϵ = absorvidade molar de cianidina 3-glicosídeo = 26900; C = a concentração do extrato no tampão expresso em mg/mL.

Os resultados foram expressos como mg de cianidina 3-*O*- glicosídeo (cyd-3-*O*-glu)/100 g de polpa seca.

2.6. Análise de antocianinas por HPLC-MS/MS

A separação cromatográfica e análise espectrométrica das massas (HPLC-MS/MS) foram realizadas em HPLC Waters 2695 (Waters Corp. Milford, MA, E.U.A) equipado com detector *photodiode array* (PDA) Water 996 (Waters Corp.) e um amostrador Waters 717 plus (Waters Corp.) acoplado a espectrômetro de massa quadrupolo tempo de voo (QTOF-MS) (Micromass, Waters Corp.). A coluna analítica utilizada foi uma Gemini RP-18 (150 mm x 4.6 mm d.i., 5 μ m) (Phenomenex, Torrance, CA, E.U.A.). Durante as análises de HPLC-MS/MS, 10 μ L de amostra foram injetados pelo amostrador automático. As amostras foram eluídas pela coluna com um gradiente de fase móvel constituído de água (fase móvel A) e metanol (fase móvel B), ambos acidificados com 0.1% (v/v) de ácido fórmico com fluxo de 0,5 mL/min, antes da injeção no Q-TOF-MS. Um gradiente linear de 50 minutos foi programado como segue: 0 – 5 min, 10% B; 5 – 8 min, 10 – 15% B; 8 – 10 min, 15 – 20% B; 10 – 13 min, 20 – 25% B; 13 – 18 min, 25 – 30% B; 18 – 25 min, 30 – 35% B; 25 – 30 min, 35 – 45% B; 30 – 33 min, 45 – 60% B; 33 – 35 min, 60 – 95% B; 35 – 42 min, 95% B; 42 – 44 min, 95 – 10% B; 44 – 50 min, 10% B. As temperaturas da coluna e da amostra foram mantidas em 30°C e 20°C, respectivamente.

O Q-TOF-MS foi usado em modo positivo e calibrado com iodeto de sódio (2 μ g/ μ L, 50:50 2-propanol:água), de acordo com as instruções do fabricante. Os espectros de massa totais foram registrados usando uma voltagem capilar de 2100 V e uma voltagem cone de 30 V. Os fluxos dos gases de dessolvatação (N₂) e de colisão (He) foram 900 e 50 L/h, respectivamente. A temperatura do gás de dessolvatação e da fonte de íon foram programadas para 250 e 120°C, respectivamente. O espectro MS/MS foi adquirido usando uma energia de colisão de 30 V.

As antocianinas foram determinadas pela comparação do padrão de fragmentação com bibliotecas de espectros de massa e a quantificação baseou-se na área do pico, em um comprimento de onda de 520 nm, usando as respectivas agliconas como padrões externos. As concentrações de antocianinas foram expressas como mg de equivalentes de aglicona por 100 g de polpa liofilizada. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.7. Determinação do conteúdo fenólico total

Os compostos fenólicos totais dos extratos brutos de frutos de juçara foram determinados por modificações descritas por Li *et al.* (2009) para o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965). Em cada 200 µL de extrato bruto apropriadamente diluído foram adicionados 1,9 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído dez vezes em água purificada (recém preparado). O mesmo volume (1,9 mL) de solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) (60 g/L) foi usado para neutralizar a mistura. Após 120 minutos de reação na ausência de luz e a temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 725 nm. Ácido gálico foi usado como padrão, e os resultados expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de polpa liofilizada.

2.8. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A análise da atividade antioxidante baseou-se no método modificado de Brand-Williams *et al.* (1995) conforme descrito por Anton *et al.* (2008). Resumidamente, 3,9 mL de solução metanólica de radical DPPH 60 µmol/L foi adicionado a 100 µL de extrato bruto. Depois de 30 minutos de incubação no escuro e a temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 515 nm. Os resultados foram expressos como µmol de equivalentes de Trolox (ET) por g de polpa de juçara liofilizada.

2.9. Atividade antioxidante por ORAC

A capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) dos frutos de juçara para todas as colheitas foi medida seguindo o método descrito por Huang *et al.* (2002) com algumas modificações. Um sistema automático (Precision 2000) (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT) de pipetagem foi usado para transferir o líquido *plate-to-plate*. Um

leitor de fluorescência FLx800 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT) para microplacas foi usado com filtros fluorescentes para um comprimento de onda de excitação de 485 nm e um comprimento de onda de emissão de 528 nm. O leitor de placa foi controlado pelo software KC4 3.0 (versão 2.9). A solução final continha 120 μL de fluoresceína, 60 mmol/L APPH e 20 μL do extrato bruto de juçara apropriadamente diluído ou 20 μL de uma solução buffer para um reagente branco. A fluorescência da mistura foi determinada e registrada a cada minuto durante 50 minutos da análise. Trolox, que é análogo da vitamina E e solúvel em água, foi usado como padrão da reação e o resultado final foi expresso como μmol de equivalentes de Trolox (ET) por g de polpa de juçara liofilizada.

2.10. Análise estatística

Os resultados foram reportados como média \pm desvio padrão da média, sendo que este desvio foi calculado dividindo-se o desvio padrão das medidas pela raiz quadrada do número de experimentos. Os dados foram analisados pelo teste de análise de variância (*one-way* ANOVA), usando o software JMP® versão 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, E.U.A.). O teste de Tukey ($p=0,05$) foi usado para acessar diferenças significativas entre médias para as amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Dados climáticos

Os dados climáticos referentes à precipitação, radiação solar, temperatura e umidade relativa, coletados durante o período de março a junho de 2012, estão apresentados na **TABELA 2.2**.

Durante os quatro meses de coleta dos frutos de juçara, houve um aumento gradativo do índice de precipitação mensal (5,18–8,41 mm), e consequentemente da umidade relativa mensal (87,64–95,69%). Com a aproximação dos meses mais frios, a incidência solar mensal (325,39–126,92 W/m^2) e a temperatura mensal (23,67–17,54 $^{\circ}\text{C}$) diminuíram, fazendo com que o clima ficasse frio e úmido. Segundo Mancinelli (1983), o clima frio e as alterações na intensidade da luz podem favorecer o acúmulo de antocianinas, já que esses pigmentos atuam como *light-screening* ou seletores de luz.

Em um estudo com plantas do gênero *Arabidopsis thaliana*, Leyva *et al.* (1995) mostraram que condições de baixa temperatura e luminosidade favoreceram a codificação das enzimas reguladoras, fenilalanina amonialiase (PAL) e chalcona sintase (CHS), da via biossintética das antocianinas.

TABELA 2.2 – Dados climáticos de março a junho de 2012, na região de Morretes

		Precipitação	Radiação solar	Temperatura	Umidade Relativa
		(mm)	(W/m ²)	(°C)	(%)
Março	Mínimo	0,00	58,81	23,88	79,59
	Máximo	83,00	486,42	27,43	98,01
	Média mensal	5,18	325,39	23,67	87,64
Abril	Mínimo	0,00	34,52	15,75	82,14
	Máximo	55,6	411,52	25,62	99,98
	Média mensal	6,20	227,27	22,10	92,15
Maio	Mínimo	0,10	37,41	15,65	82,37
	Máximo	34,90	324,56	23,13	99,17
	Média mensal	7,54	182,94	19,31	93,97
Junho	Mínimo	8,3	116,60	16,10	94,84
	Máximo	32,1	274,84	20,54	94,84
	Média mensal	8,41	126,92	17,54	95,69

Fonte: Instituto Tecnológico Simepar (2011).

3.2. Caracterização química dos frutos de juçara

Os dados de umidade, cinzas, proteínas e lipídios dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*) coletados em seis colheitas durante os meses de março a junho de 2012 estão apresentados na **TABELA 2.3**.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as colheitas apenas para os resultados de umidade. O teor de umidade encontrado (60,19–70,35 g/100g) está próximo ao descrito na literatura para frutos de juçara (*Euterpe edulis*) da região de Santa Catarina (58,85–65,05 g/100g) (BORGES, 2010), e superior aos frutos de *Euterpe oleracea* da região Norte do Brasil (48,6–41,8 g/100g) (SANABRIA e SANGRONIS, 2007).

TABELA 2.3 – Caracterização química dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*)

Colheitas	----- g/100g de matéria fresca -----			
	Umidade	Cinzas	Proteínas	Lipídios
C1: 29/março	65,88 ± 0,96 ^A	1,37 ± 0,31 ^A	3,01 ± 0,81 ^A	3,85 ± 2,61 ^A
C2: 12/abril	60,19 ± 0,25 ^B	1,13 ± 0,13 ^A	2,27 ± 0,77 ^A	6,67 ± 2,91 ^A
C3: 26/abril	65,59 ± 2,90 ^A	1,22 ± 0,61 ^A	2,29 ± 1,23 ^A	4,68 ± 2,10 ^A
C4: 10/maio	68,33 ± 3,02 ^A	1,45 ± 1,76 ^A	2,12 ± 1,39 ^A	3,69 ± 1,84 ^A
C5: 24/maio	69,39 ± 1,34 ^A	1,51 ± 1,44 ^A	2,05 ± 0,79 ^A	4,33 ± 1,96 ^A
C6: 7/junho	70,35 ± 0,98 ^A	1,51 ± 0,59 ^A	2,10 ± 0,65 ^A	4,76 ± 1,73 ^A

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^{A-B} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

A quinta colheita (C5) apresentou o menor conteúdo de proteínas (2,05 g/100g, que representa 6,70g/100g de matéria seca) e não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as colheitas, sendo que o valor médio de proteínas foi de 6,95 g/100g de matéria seca. Valores semelhantes para o teor de proteínas foram encontrados por Borges (2010) (8,21–5,13 g/100g) e Silva, Barreto e Serôdio (2004) (6,72 g/100g) para frutos de *Euterpe edulis*. Segundo Rogez (2000), algumas palmeiras podem fixar maior quantidade de nitrogênio mediante condições favoráveis ao desenvolvimento de bactérias simbióticas fixadoras de N₂, podendo contribuir para o maior conteúdo de proteína encontrado para os frutos da primeira colheita (C1).

A quantificação de cinzas não apresentou diferença significativa entre as colheitas, sendo que os conteúdos variaram de 1,13 a 1,51 g/100g, que representa 2,84–5,10 g/100g de matéria seca. Silva, Barreto e Serôdio (2004), ao estudarem a composição química das cinzas de juçara, relataram baixos teores de fósforo (0,8 g/kg), potássio (12,1 g/kg), cálcio (4,3 g/kg) e magnésio (1,5 g/kg), e altos teores de ferro (559,6 mg/kg), zinco (12,2 mg/kg), cobre (14,0 mg/kg) e manganês (43,4 mg/kg).

O teor de lipídeos variou de 11,29 a 16,77 g/100g de matéria seca. Mesmo sem apresentar diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$) entre as colheitas, observou-se uma tendência de flutuação no acúmulo de matéria gordurosa ao longo dos quatro meses de colheita. Estes valores encontram-se inferiores aos valores descritos para juçara (18,45–44,08 g/100g) (BORGES, 2010) e açaí (35–45 g/100g) (ROGEZ, 2000; SILVA; BARRETO; SERÔDIO, 2004, SANABRIA e SANGRONIS, 2007). Entretanto, o valor de lipídeos é semelhante ao encontrado em buriti (*Mauritia flexuosa*)

(13,85 g/100g), que, assim como juçara, é um fruto pertencente à família *Palmae* (MANHÃES e SABAA-SRUR, 2011).

Sanabria e Sangronis (2007) compararam frutos de *Euterpe oleracea* coletados nos meses de fevereiro e julho em uma região na Venezuela. Os autores relatam que frutos colhidos no verão apresentam maior teor de umidade (48,6 g/100g), lipídios (49,4 g/100g de matéria seca) e cinzas (5,2 g/100g de matéria seca), do que os frutos colhidos na estação fria (umidade: 41,8 g/100g; lipídeos: 33,1 g/100g de matéria seca e cinzas: 2,2 g/100g de matéria seca). O teor de proteínas aumentou de 13,8 g/100g de matéria seca em fevereiro para 15,9 g/100g de matéria seca em julho, e foi em média 2,3 vezes maior do que o valor de proteína encontrado para juçara. Essas variações são consideradas naturais, uma vez que a matéria prima é de origem vegetal, e decorrem da variedade da planta, solo, condições climáticas, da época da colheita dos frutos, do processo de despulpamento, das condições de armazenamento e das condições analíticas adotadas.

3.3. Análise de antocianinas

Os conteúdos de antocianinas totais dos frutos de juçara das seis colheitas foram determinados pelo método do pH diferencial, baseando-se na propriedade de mudança de cor, em função do pH, apresentada pelas antocianinas. Cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massa foram utilizadas para caracterizar os flavonóides e determinar o perfil destes compostos em frutos de juçara de três diferentes estádios de maturação.

3.3.1. Antocianinas totais pelo método do pH diferencial

Antocianinas desempenham um importante papel como subgrupo de flavonóides, e são tipicamente encontradas nas plantas como *O*-glicosídeos com o grupamento OH do C3 geralmente envolvido na ligação glicosídica (CLIFFORD e BROWN, 2006; ANDERSEN e JORDHEIM, 2006). A presença de antocianinas em plantas resulta em uma variedade de nuances de cores em flores, frutos e folhas, que vão desde o rosa, vermelho, violeta até o azul escuro (ANDERSEN e JORDHEIM, 2006).

A quantificação de antocianinas pode servir como um índice de maturação e um importante parâmetro de qualidade a ser avaliado nos frutos de juçara, já que é diretamente relacionada com a maior ou menor presença de pigmentação avermelhada

na casca e na polpa do fruto. A **TABELA 2.4** mostra os resultados da quantificação das antocianinas dos frutos de juçara em sucessivas extrações, acompanhada da sua eficiência (em percentagem, %).

Os teores de antocianinas totais encontrados nos frutos de juçara das seis colheitas variaram de 91,52 a 236,19 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de polpa liofilizada. Apenas frutos colhidos em março (C1) e na primeira quinzena de abril (C2) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de antocianinas totais. O aumento significativo do conteúdo de antocianinas a partir da terceira colheita (C3), são indícios de mudanças de cor dos frutos, quando assumem coloração roxa (C3 e C4) e roxo escuro (C5 e C6). Considerando-se o aspecto bioquímico do metabolismo do fruto juçara, esses resultados estão consistentes com o fato de que durante o amadurecimento do fruto, ocorre aumento no teor de pigmentos antociânicos, com consequente aumento na coloração da epiderme e da polpa (POMMER, 2003).

Quanto às condições meteorológicas, os maiores teores de antocianinas foram observados na segunda quinzena de maio (C5) e na primeira quinzena de junho (C6) (**TABELA 2.2**), na qual ocorreu menor temperatura máxima média. Segundo Leeuwen *et al.* (2004), o aumento das temperaturas diurnas, durante o período de maturação, associado à alta incidência solar, tem relação com a redução do teor de antocianinas em frutas.

Além disso, observa-se um aumento da precipitação média mensal entre os meses de maio e junho (**TABELA 2.2**). Segundo Falcão *et al.* (2008), elevados volumes de precipitação durante o período de maturação são prejudiciais, pois resultam em menores teores de antocianinas nos frutos. Isso pode explicar o teor de antocianina total significativamente superior ($p < 0,05$) da penúltima (C5) quando comparada à última (C6) colheita (**TABELA 2.4**). Em uvas (*Vitis vinífera* L.), Ubalde *et al.* (2010) constataram que o maior teor de antocianinas nas bagas ocorre em anos com menor precipitação pluvial e menor temperatura diurna. Outra explicação referente ao decréscimo nos teores de antocianinas, observado na última colheita (C6), pode estar relacionado ao avanço do estágio de maturação e ao início do processo de senescência dos frutos.

Neste estudo, observou-se um acúmulo de antocianinas em frutos de juçara durante o período de março a junho, o que pode ser explicado pela chegada do clima frio e da diminuição da incidência solar (**TABELA 2.2**) (MANCINELLI, 1983).

TABELA 2.4 – Teor de antocianinas totais dos frutos de juçara (*Euterpe edulis*) das seis colheitas e sua respectiva eficiência de extração

Colheita	Antocianinas totais (mg de cianidina 3- <i>O</i> -glicosídeo/100g de polpa seca)			
	1ª extração	2ª extração	3ª extração	Total
C1: 29/março – Inicial/Violeta	76,27 ± 1,49 (91,46%)	12,12 ± 0,98 (14,54%)	3,13 ± 0,90 (3,75%)	91,52 ± 3,46 ^E
C2: 12/abril – Intermediário/Roxo	79,70 ± 1,09 (91,35%)	12,75 ± 0,96 (14,61%)	3,22 ± 0,76 (3,69%)	95,67 ± 2,89 ^E
C3: 26/abril – Intermediário/Roxo	102,30 ± 0,79 (91,75%)	16,13 ± 0,29 (14,47%)	4,25 ± 0,05 (3,81%)	122,68 ± 1,14 ^C
C4: 10/maio – Intermediário/Roxo	94,36 ± 1,10 (91,67%)	15,23 ± 0,85 (14,79%)	3,97 ± 0,25 (3,86%)	113,56 ± 2,26 ^D
C5: 24/maio – Final/Roxo escuro	196,13 ± 1,82 (91,81%)	31,62 ± 1,14 (14,80%)	8,44 ± 0,85 (3,95%)	236,19 ± 3,88 ^A
C6: 7/junho – Final/Roxo escuro	175,03 ± 0,98 (91,85%)	28,11 ± 0,52 (14,75%)	7,28 ± 0,21 (3,82%)	210,42 ± 1,75 ^B

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^{A-E} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

No entanto, em um estudo recente, Borges (2010) analisou o teor de antocianinas de frutos de juçara provenientes de nove diferentes regiões de Santa Catarina. A autora reportou uma diferença significativa do teor de antocianinas decorrente do local de colheita e da época do ano, com valores oscilando de 42,40 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g para frutos colhidos em Garuva no mês de julho, até 1080,0 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g para frutos da região de Urussanga. Segundo a mesma autora, o maior teor de antocianinas foi evidenciado em frutos procedentes da região de Urussanga, colhidos no mês de janeiro, com temperaturas elevadas e médias altitudes.

O teor de antocianinas encontrado para os frutos maduros de juçara (C5: 236,19 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de polpa seca e C6: 210,42 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g) é similar ou superior ao teor de antocianinas encontrado em mirtilo (*Vaccinium angustifolium*) (208 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de matéria seca) (MOYER *et al.*, 2002) e framboesa (cv. *Canby*) (260,90 mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de matéria seca) (WANG e LIN, 2000) .

Acredita-se que o consumo de frutos de juçara, especialmente frutos maduros, são benéficos para a saúde humana por conter altos teores de antocianinas. Apesar de alguns estudos sugerirem que apenas 2%, aproximadamente, da dose consumida de antocianinas é absorvida (CLIFFORD e BROWN, 2006), o consumo regular destes compostos tem sido associado com a redução do risco de doenças crônicas, especialmente aquelas relacionadas ao estresse oxidativo, devido às suas propriedades antioxidantes. Além dos efeitos benéficos na saúde humana, o interesse nas antocianinas reside na possibilidade de utilizar frutos como fontes naturais de corante alimentícios (ANDERSEN e JORDHEIM, 2006).

3.3.2. Identificação de antocianinas por HPLC-MS/MS

A **FIGURA 2.1** mostra o cromatograma completo (em 520 nm) para o extrato antociânico de frutos de juçara colhidos no mês de junho (C6). Os picos foram numerados de acordo com seus tempos de retenção (t_R). Convém ressaltar que o tempo de retenção, parâmetro baseado na hidrofobicidade da molécula, é influenciado pelo grau de glicosilação e pela natureza dos açúcares presentes nesses pigmentos. Seis picos principais foram identificados em extratos antociânicos de juçara em todos os seis estádios de amadurecimento. Os espectros UV para os picos numerados foram

caracterizados por duas bandas principais de absorção: em torno de $\lambda_{\text{máx}}$ 280 nm e 520 nm.

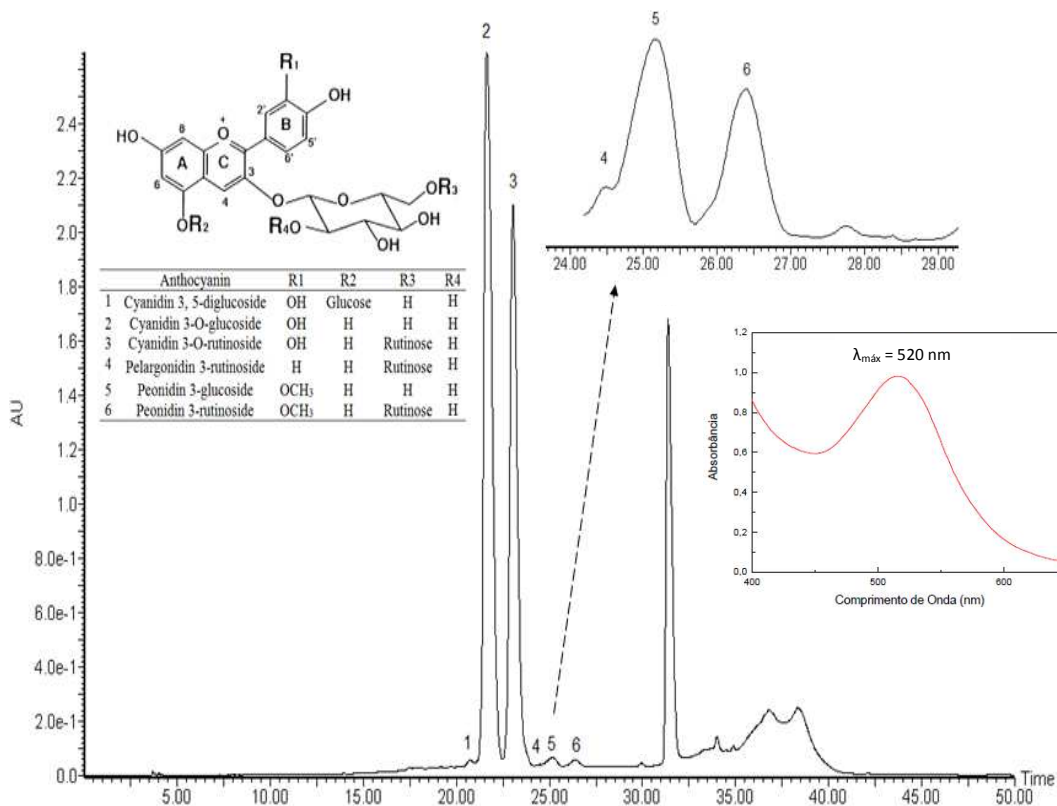


FIGURA 2.1 – Cromatograma completo (0–50 minutos) registrado em 520 nm para frutos de juçara da sexta colheita (C6).

Nota: Compostos foram identificados como segue: pico 1: cianidina 3, 5-diglicosídeo; 2: cianidina 3-O-glicosídeo; 3: cianidina 3-O-rutinosídeo; 4: pelargonidina 3-rutinosídeo; 5: peonidina 3-glicosídeo; 6: peonidina 3-rutinosídeo. Condições cromatográficas: ver texto.

O modo positivo foi escolhido para a espectrometria de massas já que as antocianinas tem uma carga positiva natural; dessa forma, tem-se a representação como $[M]^+$, por se tratar de um cátion (ABDEL-AAL, YOUNG e RABALSKI, 2006). Os resultados das análises de massa são mostrados na **TABELA 2.5**. Baseado no padrão de fragmentação, as agliconas foram identificadas como cianidina, pelargonidina e peonidina.

TABELA 2.5 – Tempo de retenção, absorção máxima, massa molecular desprotonada, íons produzidos, e nome do composto dos picos 1–6

Pico	t_R (min)	$\lambda_{m\acute{a}x}$	$[M+H]^+$	MS/MS (m/z)	Composto
1	20,73	279, 522	611	449, 287	Cianidina 3, 5-diglicosídeo
2	21,65	280, 519	449	287	Cianidina 3- <i>O</i> -glicosídeo
3	23,03	280, 522	595	449, 287	Cianidina 3- <i>O</i> -rutinosídeo
4	24,47	278, 519	579	433, 271	Pelargonidina 3- <i>O</i> -rutinosídeo
5	25,17	275, 519	463	301	Peonidina 3- <i>O</i> -glicosídeo
6	26,40	280, 523	609	463, 301	Peonidina 3- <i>O</i> -rutinosídeo

Nota: Compostos foram identificados como segue: pico 1: cianidina 3, 5-diglicosídeo; 2: cianidina 3-*O*-glicosídeo; 3: cianidina 3-*O*-rutinosídeo; 4: pelargonidina 3-*O*-rutinosídeo; 5: peonidina 3-glicosídeo; 6: peonidina 3-*O*-rutinosídeo.

3.3.2.1. Identificação de glicosídeo de cianidina

As bandas de absorção características ($\lambda_{m\acute{a}x}$ 280 e 520 nm) e a presença do íon 287 indicaram que o pico 1, pico 2 e pico 3 são uma antocianina e as suas respectivas agliconas são cianidina (2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-triidroxicromenium). O pico 1 apresentou dois fragmentos, derivados de duas perdas consecutivas de 162 u, em vez de um fragmento decorrente de uma perda de 324 u, o que indica que essas antocianinas apresentam duas hexoses glicosiladas em posições diferentes (provavelmente em 3 e 5), ao invés de um dissacarídeo na posição 3, cuja perda seria de 324 u. Sendo assim, o pico 1 foi caracterizado como cianidina 3, 5-diglicosídeo, e já foi relatado para frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) (ROSSO *et al.*, 2008), romã (HERNÁNDEZ *et al.*, 1999), e frutos do tipo *berries*, tais como *blackberry*, *raspberry* e *strawberry* (WU *et al.*, 2006).

Para o pico 2, o íon m/z 287 é o íon radical aglicona formado pela quebra homolítica da ligação glicosídica entre a aglicona e o grupamento açúcar. Considerando que a maior parte das antocianinas encontradas naturalmente em alimentos estão pelo menos glicosiladas na posição 3 (STRACK e WRAY, 1994; BOBBIO e MERCADANTE, 2008), o pico 2 foi identificado como cianidina 3-*O*-glicosídeo (MW = 449), compreendendo cianidina (287) e hexose (162). A *O*-glicosilação também foi confirmada pela ausência de perda de água (perda de 18 unidades de massa) e clivagem *cross-ring* do grupamento açúcar, o principal padrão de fragmentação de flavonóides glicosilados (CUYCKENS e CLAYES, 2004).

O perfil ESI/MS do pico 3 apresentou um íon molecular $[M]^+$ a m/z 595 e dois fragmentos a 287 u e 449 u; o primeiro fragmento correspondendo a aglicona cianidina, como resultado da perda de rutinose $[M-308]^+$, e o fragmento a 449 u correspondendo à aglicona cianidina mais uma molécula de hexose, como o resultado da perda de uma desóxi-hexose $[M-146]^+$. O pico 3 foi definitivamente identificado como cianidina 3-*O*-rutinosídeo por coeluição por HPLC com padrão.

Esses resultados estão coerentes com aqueles relatados em estudos anteriores com frutos de juçara (*Euterpe edulis*) (HARBORNE *et al.*, 1994) e açai (*Euterpe oleracea*) (GALLORI *et al.*, 2004; ROSSO *et al.*, 2008; GORDON *et al.*, 2012). Além dessas cianidinas, Brito *et al.* (2007) também identificaram cianidina 3-sambubiosídeo e cianidina 3-rhamnosídeo em frutos de açai.

3.3.2.2. Identificação de glicosídeo de pelargonidina

A presença do íon 271 no fragmento do pico 4 indicou que a aglicona é pelargonidina (2-(4-Hidroxifenil)cromenilium-3,5,7-triol). O padrão de fragmentação apresentado pelo pico 4 sugeriu uma *O*-glicosilação na posição 3. Assim, o pico 4 foi caracterizado como pelargonidina 3-*O*-rutinosídeo (MW = 579), compreendendo rutinose $[M-308]^+$ e desóxi-hexose $[M-146]^+$. Ambos os glicosídeos de pelargonidina foram identificados em uma grande variedade de frutos, incluindo juçara (*Euterpe edulis*) (BRITO *et al.*, 2007), morango (WU e PRIOR, 2005; SILVA *et al.*, 2007), uva, cereja doce, ameixa preta, *cranberry*, framboesa e amora (WU e PRIOR, 2005).

3.3.2.3. Identificação de glicosídeo de peonidina

A presença do íon m/z 301 nos fragmentos dos picos 5 e 6 indicou que a aglicona é peonidina (2-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)cromenilium-3,5,7-triol). O perfil de fragmentação apresentado pelos picos 5 e 6 sugeriu uma *O*-glicosilação na posição 3. O pico 5 foi designado como peonidina 3-*O*-glicosídeo (MW = 463), compreendendo hexose (162), sendo essa hexose identificada como glucose. Cabe ressaltar que glucose foi o único monossacarídeo encontrado por Veigas *et al.* (2007) após hidrólise ácida de um extrato antociânico obtido a partir de frutos de *Syzygium cumini*, sendo que o hidrolisado foi analisado por meio de cromatografia em papel e espectrometria de massas (ESI-MS).

O pico 6 foi definitivamente identificado como peonidina 3-*O*-rutinosídeo (MW = 609), compreendendo rutinose [M-308]⁺ e desóxi-hexose [M-146]⁺ por coeluição por HPLC com padrão. Peonidina 3-*O*-glicosídeo e peonidina 3-*O*-rutinosídeo foram identificadas em estudos anteriores com frutos de açaí maduro (*Euterpe oleracea*) (SCHAUSS *et al.*, 2006; ROSSO *et al.*, 2008; GORDON *et al.*, 2012).

3.3.3. Quantificação de antocianinas por HPLC

O interesse nos frutos de juçara é decorrente da sua similaridade aos frutos do açaí (*Euterpe oleracea*), que já são bem conhecidos por conter altos teores de compostos fenólicos, incluindo antocianinas, flavonas e ácidos fenólicos (ROGEZ, 2000; DEL POZO INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004, LICHTENTHALER *et al.*, 2005, SCHAUSS *et al.*, 2006, PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2008; PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2009). Segundo Silva, Barreto e Serôdio (2004), os frutos de juçara (*Euterpe edulis*) apresentam teores de açúcares totais e lipídeos superiores aos frutos de açaí (*Euterpe oleracea*), resultando em maior valor energético para esta polpa, que na do açaí.

Na literatura são poucos os trabalhos que identificaram e quantificaram os compostos fenólicos e atividade antioxidante de frutos de juçara (IADEROZA *et al.*, 1992, SILVA, BARRETO e SERÔDIO, 2004, BRITO *et al.*, 2007, RUFINO *et al.*, 2010; BORGES *et al.*, 2011; BORGES *et al.*, 2013), comparado ao número de trabalhos publicados a respeito da composição do açaí. Neste trabalho, a quantificação de antocianinas foi realizada nos frutos de juçara em três diferentes estádios de maturação, provenientes de seis colheitas feitas quinzenalmente entre março e junho.

Para quantificar as antocianinas em frutos de juçara, cloreto de cianidina foi usado como padrão para seu respectivo glicosídeo. O conteúdo de antocianinas nos frutos durante as seis colheitas é mostrado na **TABELA 2.6**.

Um pico significativo de cianidina 3-*O*-glicosídeo (108,97 mg /100g de polpa liofilizada) foi encontrado apenas em frutos da última colheita (C6), enquanto um pico significativo de cianidina 3-*O*-rutinosídeo (137,27 mg /100g de polpa liofilizada) estava presente apenas em frutos da penúltima colheita (C5). Cianidina 3-*O*-glicosídeo (pico 2) e cianidina 3-*O*-rutinosídeo (pico 3) foram as duas principais antocianinas encontradas em frutos de juçara em todas as seis colheitas.

TABELA 2.6 – Conteúdo de antocianinas (mg aglicona equivalentes/100g de polpa liofilizada) em polpa de frutos de juçara (*Euterpe edulis*) durante as seis colheitas

Pico	Colheitas					
	C1: 29/março Inicial/Violeta	C2: 12/abril Intermediário/Roxo	C3: 26/abril Intermediário/Roxo	C4: 10/maio Intermediário/Roxo	C5: 24/maio Final/Roxo escuro	C6: 7/junho Final/Roxo escuro
1 ^a	0,17 ± 0,01 ^B	0,17 ± 0,02 ^B	0,19 ± 0,01 ^B	0,11 ± 0,01 ^C	0,18 ± 0,01 ^B	0,33 ± 0,02 ^A
2 ^a	29,09 ± 0,17 ^E	33,94 ± 0,21 ^D	30,51 ± 0,64 ^E	42,95 ± 0,15 ^C	85,61 ± 0,51 ^B	108,97 ± 1,07 ^A
3 ^b	43,92 ± 0,24 ^E	42,77 ± 0,68 ^E	74,26 ± 0,67 ^D	76,59 ± 0,82 ^C	137,27 ± 1,22 ^A	87,08 ± 0,81 ^B
4 ^a	nd	0,04 ± 0,01 ^A	0,06 ± 0,01 ^A	nd	nd	0,07 ± 0,03 ^A
5 ^a	0,33 ± 0,02 ^B	0,38 ± 0,01 ^B	0,42 ± 0,01 ^B	1,27 ± 0,06 ^A	1,21 ± 0,02 ^A	1,24 ± 0,03 ^A
6 ^a	0,47 ± 0,01 ^C	0,55 ± 0,03 ^C	0,71 ± 0,04 ^B	0,46 ± 0,01 ^C	0,81 ± 0,05 ^{AB}	0,83 ± 0,06 ^A
Total	73,98 ± 0,45 ^E	77,85 ± 0,96 ^E	106,15 ± 1,38 ^D	121,38 ± 1,05 ^C	225,08 ± 1,81 ^A	198,52 ± 2,02 ^B

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^a Os resultados são expressos em mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de polpa liofilizada; ^b Os resultados são expressos em mg de cianidina 3-*O*-rutinosídeo /100g de polpa liofilizada; nd: quantidade não significativa.

^{A-E} Letras sobrescritas diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Compostos foram identificados como segue: pico 1: cianidina 3, 5-diglicosídeo; 2: cianidina 3-*O*-glicosídeo; 3: cianidina 3-*O*-rutinosídeo; 4: pelargonidina 3-rutinosídeo; 5: peonidina 3-glicosídeo; 6: peonidina 3-rutinosídeo.

É interessante notar que o teor de cianidina 3-*O*-rutinosídeo foi superior ao de cianidina 3-*O*-glicosídeo da primeira colheita (C1) até a penúltima colheita (C5), quando então, inverte-se essa proporção. Durante o amadurecimento do fruto, a cianidina 3-*O*-rutinosídeo pode ser transformada em cianidina 3-*O*-glicosídeo pela quebra da molécula de rutinose. A conversão da cianidina 3-*O*-rutinosídeo em glicosídeo é uma estratégia importante para aumentar a sua biodisponibilidade nos alimentos (OLTHOF *et al.*, 2000).

A juçara é um fruto esférico de coloração verde quando jovem e ao amadurecer apresenta coloração roxo escuro, devido ao seu alto conteúdo de antocianinas. Com relação ao nível de maturação dos frutos e sua respectiva coloração visual (**TABELA 2.6**), é possível observar que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de cianidina 3-*O*-glicosídeo para os frutos colhidos em março (C1: inicial/violeta) e na segunda quinzena de abril (C3: intermediário/roxo), enquanto que frutos colhidos no mesmo estágio de maturação (C5 e C6: final/roxo escuro), em diferentes meses, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) no teor dessa antocianina.

Comportamento similar pode ser observado para todas as outras antocianinas individuais (**TABELA 2.6**), por exemplo, frutos da primeira (C1: inicial/violeta) e segunda (C2: intermediário/roxo) colheita não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de cianidina 3-*O*-rutinosídeo, embora tenham apresentado diferença na cor da casca. Já os frutos colhidos no mesmo estágio de maturação (C2, C3 e C4: intermediário/roxo) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de cianidina 3-*O*-rutinosídeo. Estes resultados são consistentes com o fato de que as características ambientais sob as quais decorre o desenvolvimento dos frutos têm grande influência na quantidade dos compostos responsáveis pela pigmentação, mas a natureza e as percentagens relativas destas substâncias obedecem a um determinante genético que as torna mais ou menos constantes (CALÒ *et al.*, 1994).

Embora possa ser observada uma tendência crescente no acúmulo de antocianinas entre as colheitas (**TABELA 2.6**), os frutos da penúltima colheita (C5: final/roxo escuro) (225,08 mg /100g de polpa liofilizada) apresentaram teor de antocianina total superior ($p < 0,05$) aos da última colheita (C6: final/roxo escuro) (198,52 mg /100g de polpa liofilizada). Nesse caso, a variabilidade do teor de antocianinas pode ser atribuída aos fatores climáticos, incluindo a radiação solar, precipitação e temperatura durante o mês de maio e junho, mas não à variação da espécie vegetal, já que os frutos foram colhidos sempre da mesma palmeira. A

influência das condições climáticas, tais como luminosidade e temperatura, sobre a composição de flavonóides também foi comprovada em morango (CRESPO *et al.*, 2010), e pêssgo (GIORGI *et al.*, 2005).

Em geral, a palmeira juçara (*Euterpe edulis* M.) cresce em campo aberto sob os efeitos de irradiação solar, temperatura e chuva. Além disso, há frutos localizados nas partes externas dos cachos que recebem mais luz solar do que os localizados na parte interna. Por sua vez, a temperatura diária do ar e a temperatura noturna mínima exercem efeitos importantes no acúmulo de antocianinas e na cor do fruto juçara. Temperatura diurna elevada, associada à alta irradiação solar, durante o período de maturação, diminui o teor de antocianinas (LEEUEWEN *et al.*, 2004). Isso pode explicar o fato de altos teores de antocianinas serem encontrados nos frutos colhidos na segunda quinzena de maio (C5) e na primeira quinzena de junho (C6), meses no qual ocorreu menor temperatura máxima média e menor incidência solar.

Mais estudos são necessários para comprovar os efeitos dos fatores ambientais, como temperatura, precipitação e incidência solar, sobre o acúmulo e composição de compostos fenólicos durante o crescimento e amadurecimento de frutos de juçara. A confirmação dessas mudanças nas características composicionais dos frutos ano a ano, é interessante no que diz respeito à seleção dos frutos de juçara com teor ideal/máximo de antocianinas.

Pela sua cor característica vermelha violácea, antocianinas são os principais pigmentos que contribuem para a coloração roxa intensa em frutos maduros de juçara. A alta concentração de antocianinas encontrada em juçara pode justificar a utilização mais abrangente destes frutos pela indústria de alimentos no desenvolvimento de novos produtos direcionados a saúde humana, coloridos naturalmente e enriquecidos de antioxidantes.

3.4. Quantificação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Os teores de compostos fenólicos totais e as atividades antioxidantes encontrados nos extratos antociânicos dos frutos de juçara das seis colheitas são apresentados na **TABELA 2.7**. Em frutas, a atividade antioxidante vem sendo determinada pela presença de diferentes antioxidantes com diferentes mecanismos de ação, o que pode levar a interações sinérgicas. Assim, faz-se necessário combinar mais

de um método para determinar a atividade antioxidante *in vitro* (HUANG, OU e PRIOR, 2005).

TABELA 2.7 – Conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato antociânico dos frutos de juçara colhidos entre os meses de março e junho.

	Compostos fenólicos totais ^a	Atividade antioxidante	
		DPPH ^b	ORAC ^b
C1: 29/março	81,69 ± 2,16 ^A	655,89 ± 5,50 ^D	1088,10 ± 10,26 ^E
C2: 12/abril	67,31 ± 0,88 ^B	726,30 ± 8,70 ^B	1178,48 ± 15,93 ^D
C3: 26/abril	54,53 ± 3,80 ^C	709,51 ± 4,53 ^C	1564,20 ± 13,37 ^B
C4: 10/maio	55,37 ± 2,42 ^C	724,92 ± 1,35 ^B	1266,36 ± 25,40 ^C
C5: 24/maio	52,12 ± 1,54 ^C	745,32 ± 5,32 ^A	1285,09 ± 22,59 ^C
C6: 7/junho	49,09 ± 3,32 ^C	703,32 ± 1,21 ^C	2071,55 ± 37,03 ^A

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^a Compostos fenólicos totais são expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por g de polpa liofilizada (mg EAG/g); ^bDPPH e ORAC são expressos em μmol de equivalente capacidade antioxidante a Trolox por g de polpa liofilizada (μmol Trolox/g). ^{A-E} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

3.4.1. Conteúdo de fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais variou de 81,69 a 49,09 mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de polpa liofilizada (TABELA 2.7). Frutos da primeira colheita (C1) apresentaram conteúdo de fenólicos (81,69 mg EAG/g de polpa liofilizada) significativamente superior ($p < 0,05$) aos frutos da segunda e terceira colheita (C2: 67,31 mg EAG/g de polpa liofilizada e C3: 54,53 mg EAG/g de polpa liofilizada), respectivamente. Duas colheitas foram realizadas no mês de abril, e é interessante notar que, num período de aproximadamente 15 dias, o teor de compostos fenólicos decresceu cerca de 19% entre os frutos da C2 e C3. Frutos colhidos a partir da segunda quinzena do mês de abril (C3 a C6) não apresentaram teor de compostos fenólicos estatisticamente diferentes entre si. Estes resultados sugerem que o amadurecimento reduz o conteúdo de fenólicos totais em frutos de juçara, como reportado previamente para frutos de outras espécies no qual o conteúdo de fenólicos totais também foi

expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG), como framboesa vermelha (*Rubus ideaus* L.) (WANG, CHEN e WANG, 2009), amora (*Rubus* sp. L.), morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) (WANG e LIN, 2000) e acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) (LIMA *et al.*, 2005). Kang *et al.* (2012) avaliaram o conteúdo de fenólicos totais em frutos, maduros e liofilizados, de *Euterpe precatória* e *Euterpe oleracea*, utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Considerando as duas espécies estudadas, os valores de fenólicos totais variaram de 73,0 mg EAG/g de polpa liofilizada para frutos de *Euterpe precatória* e 31,2 mg EAG/g de polpa liofilizada para frutos de *Euterpe oleracea*.

Frutos de juçara totalmente maduros, colhidos em maio e junho (C5 e C6), apresentaram conteúdo de fenólicos totais superiores a mirtilo (*Vaccinium angustifolium* Ait.) (33 mg EAG/g de polpa liofilizada) (CASTREJÓN *et al.*, 2008), jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) (13 mg EAG/g de polpa liofilizada) (SANTOS, VEGGI e MEIRELES, 2010), morango (*Fragaria x ananassa* D.) (9,46 mg EAG/g de polpa liofilizada) e framboesa (*Rubus ideaus* L.) (14,82 mg EAG/g de polpa liofilizada) (WANG e LIN, 2000). O conteúdo de fenólicos totais encontrado para frutos de juçara neste estudo, para todas as colheitas, foram maiores quando comparados aos fenólicos totais encontrados para frutos maduros de juçara das seguintes regiões de Santa Catarina: Barra Velha (24,09 mg EAG/g de polpa liofilizada), Garuva (14,28 mg EAG/g), Luís Alves (22,78 mg EAG/g), Parque (23,01 mg EAG/g) e Urussunga (48,99 mg EAG/g) (BORGES, 2010).

Os compostos fenólicos são considerados como componentes essenciais na capacidade antioxidante de plantas (VELIOGLU *et al.*, 1998). Devido ao seu considerável conteúdo de fenólicos, inclusive antocianinas, frutos de juçara (*Euterpe edulis*) são uma fonte promissora de compostos antioxidantes naturais. Espera-se que a caracterização das mudanças no conteúdo de fenólicos totais durante o amadurecimento do fruto contribua para a otimização do uso destes frutos como fonte de antioxidantes naturais pela indústria de alimentos assim como pela população em geral.

3.4.2. Atividades antioxidantes

A determinação da atividade antioxidante de frutos de juçara é o resultado da ação cumulativa, e muitas vezes sinérgica, de todos os antioxidantes presentes no extrato antociânico da fruta. Segundo Prior, Wu e Schaich (2005), a utilização de

somente uma metodologia para a determinação da capacidade antioxidante não irá refletir exatamente a capacidade antioxidante total de uma amostra. Por isso, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas. Assim, neste estudo, a atividade antioxidante de frutos de juçara foi determinada com base no sequestro de radicais livres, tal como o método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), e na reação de transferência de átomos de hidrogênio, representado pelo ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) (HUANG, OU e PRIOR, 2005).

A atividade antioxidante dos frutos de juçara, determinada pelo método do radical DPPH e pelo método ORAC, nas seis colheitas é apresentada na **TABELA 2.7**. A atividade antioxidante dos frutos determinada pelo método DPPH• variou de 655,89 a 745,32 μmol de equivalentes de Trolox (ET)/g de polpa liofilizada, e para ORAC a variação foi de 1088,10 a 2071,55 μmol ET/g de polpa liofilizada.

Para ambos os métodos utilizados, a atividade antioxidante de frutos da primeira colheita (C1: inicial/violeta) (655,89 e 1088,10 μmol ET/g de polpa liofilizada para DPPH• e ORAC, respectivamente), foi significativamente inferior ($p < 0,05$) quando comparada a atividade antioxidante encontrada para fruto de maturação final/roxo escuro da penúltima (C5: 745,32 e 1285,09 μmol ET/g de polpa liofilizada para DPPH• e ORAC, respectivamente) e última (C6: 703,32 e 2071,55 μmol ET/g de polpa liofilizada para DPPH• e ORAC, respectivamente) colheitas. Estes resultados sugerem que a atividade antioxidante de frutos de juçara está mais relacionada ao acúmulo de antocianinas, do que ao decréscimo de fenólicos totais. De fato, Pacheco-Palencia *et al.* (2009); Murdock e Schauss (2009); Schauss *et al.* (2006), afirmam que as antocianinas presentes nos frutos de açai (*Euterpe oleracea*) são responsáveis por aproximadamente 90% da atividade antioxidante desses frutos, os outros 10% correspondem à atividade antioxidante de outros flavonóides, tais como, as proantocianidinas, encontradas também em altas concentrações nesses frutos.

Kang *et al.* (2012) avaliaram a capacidade antioxidante de frutos de *Euterpe precatória* e *Euterpe oleracea* utilizando o método do radical DPPH e o método ORAC. A atividade antioxidante, medida como percentagem de atividade de sequestro de DPPH• (ou descoloração), encontrada para os frutos de *Euterpe precatória* (320,3 μmol ET/g de polpa liofilizada) e *Euterpe oleracea* (133,4 μmol ET/g de polpa liofilizada) foram inferiores aos valores de atividade antioxidante encontrada para os frutos de juçara em todas as colheitas. Já a atividade antioxidante pelo método ORAC de frutos de *Euterpe precatória* (1792,3 μmol ET/g de polpa liofilizada) e *Euterpe oleracea*

(985,9 $\mu\text{mol ET/g}$ de polpa liofilizada) foram similares aos valores encontrados para os frutos de juçara utilizados nesse estudo (**TABELA 2.7**).

4. CONCLUSÃO

Os dados deste estudo demonstram que o conteúdo de compostos fenólicos totais diminuíram durante o amadurecimento, enquanto que o teor de antocianinas e a atividade antioxidante dos extratos de frutos de juçara aumentaram da primeira à última colheita, sugerindo que as antocianinas presentes no fruto de juçara apresentam maior atividade antioxidante que outros compostos bioativos da fruta. Durante a maturação, o conteúdo de antocianinas foi influenciado pela condição meteorológica, sendo que temperaturas amenas favoreceram o acúmulo desse pigmento. A alta atividade antioxidante dos frutos de juçara poderá estimular sua utilização pela indústria de alimentos na elaboração de alimentos funcionais e nutracêuticos destinados a manutenção da saúde, na redução e/ou tratamento de enfermidades. Frutos de juçara poderiam, ainda, ser utilizados como corantes naturais pelo alto teor de antocianina.

CAPÍTULO 3

ÁCIDOS FENÓLICOS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

O conteúdo desse capítulo faz parte do artigo aceito para publicação na Plant Foods for
Human Nutrition

ÁCIDOS FENÓLICOS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM FRUTOS DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, TRUST BETA², ROSEMARY
HOFFMAN RIBANI¹

1. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
2. Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade de Manitoba, Winnipeg, Canadá.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o perfil de ácidos fenólicos e a atividade antioxidante, presente nas frações solúvel e insolúvel, de frutos de juçara colhidos em diferentes estádios de maturação. Os ácidos fenólicos foram identificados e quantificados por HPLC-MS/MS, enquanto que a atividade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH e ORAC. Para frutos de todas as colheitas foram encontrado ácido gálico, protocatecuico, 4-hidroxibenzóico, vanílico, 5-cafeoilquínico, cafeico, siríngico, *p*-cumárico, sinapínico e ferúlico. O conteúdo de ácidos fenólicos totais decresceu durante o amadurecimento (de 44,27 a 30,95 mg/100g de polpa liofilizada), sendo que a fração solúvel representou, em média, 40% desse total. A maior atividade antioxidante apresentada pela fração solúvel pode ser atribuída à presença de antocianinas. Os resultados obtidos sugerem que fruto de juçara é potencial fonte de antioxidantes naturais, podendo ser utilizados pela indústria alimentícia na elaboração de alimentos funcionais e nutracêuticos destinados a manutenção da saúde. São necessários maiores estudos relativos à biodisponibilidade e atividade antioxidante dos ácidos fenólicos, a fim de elucidar possíveis efeitos biológicos no organismo humano.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis* M., ácidos fenólicos, atividade antioxidante.

**SOLUBLE AND INSOLUBLE PHENOLIC ACIDS IN JUÇARA FRUITS
(*Euterpe edulis* M.) AT DIFFERENT STAGES OF MATURITY**

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, TRUST BETA², ROSEMARY
HOFFMAN RIBANI¹

1. Graduate Program in Food Engineer, Chemical Engineering Department, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil.
2. Department of Food Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the profile of phenolic acids and antioxidant activity present in soluble and insoluble fractions of fruit juçara harvested at different stages of maturity. Phenolic acids were identified and quantified by HPLC-MS/MS and antioxidant activity was evaluated by DPPH and ORAC method. In juçara fruits was found gallic, protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, vanillic, chlorogenic, caffeic, syringic, *p*-coumaric, sinapinic and ferulic acids. The total phenolic acids content decreased during ripening (from 44.27 to 30.95 mg/100g of freeze-dried pulp), and the soluble fraction represented 40% of this total. The high antioxidant activity presented by the soluble fraction can be attributed to the anthocyanins. These results suggest that juçara fruit is a potential source of natural antioxidants and may be used by the food industry in the development of functional and health-promoting foods. There is a need for further studies to increase our understanding of the absorption and in vivo biological effects of this family of compounds.

Keywords: juçara, *Euterpe edulis* M., phenolic acids, antioxidant activity.

1. INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos em frutos de juçara incluem antocianinas, principalmente cianidina 3-*O*-glicosídeo e cianidina 3-*O*-rutinosídeo, flavonóides como catequina, epicatequina e quercetina, além de ácidos fenólicos como ferúlico, gálico, hidroxibenzóicos e *p*-cumárico (BRITO *et al.*, 2007; RUFINO *et al.*, 2011; BORGES *et al.*, 2011). Todas estas substâncias têm recebido atenção pelos seus potenciais efeitos biológicos benéficos para a saúde humana. A literatura reporta atividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-mutagênica e anti-carcinogênica, além de sua habilidade para modular algumas atividades enzimáticas no interior da célula (GASIOROWSKI *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 2006; KHONKARN *et al.*, 2010; DEMBITSKY *et al.*, 2011; MEDINA *et al.*, 2011; BORGES *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2013).

A atividade biológica dos compostos fenólicos depende primariamente da sua absorção e metabolização, que, por sua vez, está relacionada com a estrutura química, conjugação com outras substâncias, grau de polimerização e solubilidade. Portanto, a grande diversidade estrutural dos compostos fenólicos dificulta enormemente o estudo da biodisponibilidade e dos efeitos fisiológicos, tendo motivado uma classificação em compostos fenólicos solúveis e insolúveis.

Os compostos fenólicos insolúveis encontram-se ligados a estruturas da parede celular, esterificados com arabinose ou resíduos de galactose dos componentes pécicos ou hemicelulósicos (FAULDS e WILLIAMSON, 1999; GRUZ *et al.*, 2011), enquanto os fenólicos solúveis encontram-se compartimentalizados dentro dos vacúolos celulares (BECKMAN, 2000), comumente na forma livre ou conjugada. Os ácidos fenólicos livres representam a menor parte dos compostos fenólicos e são solúveis em soluções aquosas orgânicas, tais como metanol, etanol ou acetona (TIAN, NAKAMURA e KAYAHARA, 2004). Os compostos fenólicos conjugados frequentemente estão sob a forma de ésteres e amidas, raramente ocorrendo como glicosídeos. Eles incluem compostos de baixo peso molecular, solúveis em água, presentes no citosol, ou formas lipossolúveis, associadas às ceras da superfície da planta (KARAKAYA, 2004).

Estudos têm demonstrado que os ácidos ferúlico e cumárico podem ser liberados da matriz devido à natureza lábil da ligação éster no meio alcalino do intestino delgado e também pela ação das bactérias fermentativas no íleo terminal (BUCHANAN, WALLACE e FRY, 1996; BRAVO, 1998). Este fato abre a possibilidade dos compostos fenólicos insolúveis serem absorvidos, ao menos parcialmente. Em relação

ao ácido vanílico, Prince *et al.* (2011) relataram que a ingestão de 1 mL de uma solução de ácido vanílico (10 mg/kg) diminuiu o teor de lipídeos do sangue e preveniu o infarto do miocárdio, induzido por isoproterenol, em ratos.

Em geral, os compostos fenólicos são multifuncionais como antioxidantes, pois atuam de várias formas: combatendo os radicais livres através da doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, que possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula; quelando metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^+ ; interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modificando o potencial redox do meio; reparando a lesão a moléculas atacadas por radicais livres (BIANCHI e ANTUNES, 1999; KARAKAYA, 2004; PRIOR, WU e SCHAICH, 2005; PODSEDEK, 2007; KYNGMI e EBELER, 2008).

Nesse contexto, diversas técnicas têm sido utilizadas para se determinar a atividade antioxidante *in vitro*. Dentre os métodos utilizados para se estimar a capacidade antioxidante estão o ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), desenvolvido originalmente por Cao, Alessio e Cutler (1993), que mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil gerados por uma fonte radicalar; a autooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, que atua como gerador de radicais livres, os quais interagem com o β -caroteno provocando o decréscimo da sua absorbância (MELO *et al.*, 2006; OLDONI, 2007); teste de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), que é baseado na capacidade do radical DPPH reagir com doadores de hidrogênio (CARDOSO *et al.*, 2005; MELO *et al.*, 2006; JAYAPRAKASHA *et al.*, 2007); FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), que é baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} (BENZIE e STRAIN, 1996; HUKKANEN *et al.*, 2006); ABTS•+ (2,2-azinobis-[3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfônico]), que consiste em monitorar o decréscimo do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do ABTS•+, quando uma amostra contendo antioxidantes é adicionada (RE *et al.*, 1999; STRATIL, KLEJDUS e KUBAN, 2006), e o Rancimat, que determina a estabilidade oxidativa da amostra, por meio da detecção de ácidos voláteis a 110°C (AOCS, 2003).

As metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas e podem estar sujeitas a interferências, além de se basearem em fundamentos diversos. Dessa forma, levando-se em conta os pontos fortes, pontos fracos e aplicabilidade de cada tipo de ensaio (SANCHEZ-MORENO *et al.*, 1998), atualmente preconiza-se a

utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (PRIOR e CAO, 1999).

A revisão da literatura mostra que ainda há pouca informação a respeito da composição fenólica de frutos de juçara (*Euterpe edulis* M.), e não há informação sobre a mudança desses bioativos durante o processo de amadurecimento dos frutos. Sabe-se que o processo de amadurecimento envolve alterações metabólicas e bioquímicas dos compostos primários e secundários, tornando o fruto rico em compostos nutritivos, saborosos e benéficos à saúde. Uma vez que a maturação do fruto tem impacto na sua comercialização e na nutrição humana, é importante investigar as mudanças nos níveis de compostos bioativos que ocorrem durante a maturação dos frutos de juçara. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de ácidos fenólicos solúveis e insolúveis dos frutos de juçara colhidos em diferentes estádios de maturação. As atividades antioxidantes das frações solúveis e insolúveis também foram avaliadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Idêntico ao que foi descrito no item 2.1 Material vegetal, do Capítulo 2.

2.2. Padrões e solventes

Reagente fenólico de Folin-Ciocalteu; 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox); 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) (AAPH); ácido gálico; ácido acético e acetonitrila grau HPLC, e padrões de ácidos fenólicos (gálico, protocatecuico, 4-hidroxibenzóico, vanílico, cafeoilquínico, cafeico, siríngico, *p*-cumárico, sinapínico e ferúlico) foram adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, E.U.A).

2.3. Extração dos ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos solúveis e insolúveis foram extraídos de acordo com o método proposto por Mattila *et al.* (2006), com pequenas modificações. Brevemente, 7

mL de uma mistura de metanol contendo 2 g/L de butil hidroxianisol (BHA) e 10% de ácido acético (85:15) foram adicionados a 1,0 g de polpa moída. A extração foi realizada em sonificador Branson 5510 (Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT, E.U.A.) com frequência de 40 kHz por 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, o volume da mistura foi completado para 10 ml com água destilada. Dessa solução, 1 ml foi filtrado para análise de ácidos fenólicos solúveis por HPLC–MS/MS.

Depois de coletar a amostra para análise de ácidos fenólicos solúveis, 12 mL de uma solução de água destilada contendo 1% de ácido ascórbico, 0,42% de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e 5 mL de 10 mol/L NaOH foram adicionados ao extrato aquoso restante. Essa mistura foi colocada em frasco tampado sob atmosfera de N₂ para evitar a oxidação dos compostos, e agitada *overnight* (\pm 15 horas) em temperatura ambiente usando um agitador magnético. Após esse período, aproximadamente 15 mL de HCl concentrado foram adicionados para ajustar o pH da solução em torno de 2. As agliconas fenólicas liberadas foram extraídas com 3 porções de 15 mL cada de uma mistura gelada de dietil éter e acetato de etila (1:1), sendo as frações orgânicas recolhidas e combinadas.

Depois da hidrólise alcalina, a camada aquosa foi submetida à hidrólise ácida por 30 minutos a 85°C pela adição de 2,5 mL de HCl concentrado. Posteriormente, a amostra foi resfriada, e o mesmo procedimento de extração orgânica utilizado na hidrólise alcalina foi realizado. As fases orgânicas da hidrólise alcalina e ácida foram combinadas, rotaevaporadas, e dissolvidas em 2 mL de metanol. Em seguida, foram filtradas e analisadas por HPLC-MS/MS para identificação e quantificação de ácidos fenólicos insolúveis.

2.4. Análise dos ácidos fenólicos por HPLC-MS/MS

A separação cromatográfica e análise espectrométrica das massas (HPLC-MS/MS) foram realizadas em HPLC Waters 2695 (Waters Corp. Milford, MA, E.U.A) equipado com detector *photodiode array* (PDA) Water 996 (Waters Corp.) e um amostrador Waters 717 plus (Waters Corp.) acoplado a espectrômetro de massa quadrupolo tempo de voo (QTOF-MS) (Micromass, Waters Corp.). A coluna analítica utilizada foi uma Symmetry C-18 (250 mm x 4.6 mm d.i., 5 μ m) (Waters, Milford, MA, E.U.A.). Durante as análises de HPLC-MS/MS, 10 μ L de amostra foram injetados pelo

amostrador automático. As amostras foram eluídas pela coluna com um gradiente de fase móvel A (água com 1% de ácido acético) e B (acetonitrila com 1% de ácido acético) com fluxo de 0,7 mL/min, antes da injeção no Q-TOF-MS. Um gradiente de eluição de 70 minutos foi programado como segue: eluição isocrática: 0–5 min, 5% B, gradiente linear: 5–17 min, 5–15% B, gradiente linear: 17–40 min, 15–20% B, gradiente linear: 40–60 min, 20–50% B, eluição isocrática: 60–65 min, 50% B, gradiente linear: 65–67 min, 50–5% B, e eluição isocrática: 67–70 min, 5% B, antes da próxima injeção. As temperaturas da coluna e da amostra foram mantidas em 35°C e 20°C, respectivamente. O Q-TOF-MS foi usado em modo negativo e calibrado com iodeto de sódio (2 µg/µL, 50:50 2-propanol:água), de acordo com as instruções do fabricante. Os espectros de massa totais foram registrados usando uma voltagem capilar de 700 V e uma voltagem cone de 30 V. Os fluxos dos gases de dessolvatação (N₂) e de colisão (He) foram 900 e 50 L/h, respectivamente. A temperatura do gás de dessolvatação e da fonte de íon foi programada para 300 e 150°C, respectivamente. O espectro MS/MS foi adquirido usando uma energia de colisão de 20 V.

Os ácidos fenólicos foram determinados pela comparação do padrão de fragmentação com bibliotecas de espectros de massa e a quantificação baseou-se na área do pico, em um comprimento de onda de 280 e 325 nm, usando as respectivas agliconas como padrões externos. As concentrações de ácidos fenólicos foram expressas como mg ácido fenólico equivalente por 100 g de polpa liofilizada. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.5. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

Idêntica à metodologia descrita no Item 2.8 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH, do Capítulo 2. Cabe ressaltar que a atividade antioxidante foi quantificada na fração solúvel e insolúvel.

2.6. Atividade antioxidante por ORAC

Idêntica à metodologia descrita no Item 2.9 Atividade antioxidante por ORAC, do Capítulo 2. Cabe ressaltar que a atividade antioxidante foi quantificada na fração solúvel e insolúvel.

2.7. Análise estatística

Os resultados foram reportados como média \pm desvio padrão da média. Os dados foram analisados pelo teste de análise de variância (*one-way* ANOVA), usando o software JMP® versão 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, E.U.A.). O teste de Tukey ($p=0,05$) foi usado para acessar diferenças significativas entre médias para as amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Identificação dos ácidos fenólicos solúveis e insolúveis em frutos de juçara

O perfil cromatográfico da mistura de padrões de ácidos fenólicos utilizados nesse trabalho é mostrado na **FIGURA 3.1–A**. Enquanto na **FIGURA 3.1–B** e na **FIGURA 3.1–C** são mostrados os cromatogramas típicos das frações de ácido fenólico solúvel e insolúvel, respectivamente. As estruturas dos dois principais grupos de ácidos fenólicos identificados nos frutos de juçara estão representadas na **FIGURA 3.2**.

A partir dos fragmentos $[M-H]^-$ (**TABELA 3.1**) identificados nos espectros de massas, do tempo de retenção dos padrões e das amostras, foi possível identificar os ácidos fenólicos presentes nos frutos de juçara (*Euterpe edulis*). A identificação do ácido gálico (**pico 1**) baseou-se nas características dos espectros UV-visível e de massas (**TABELA 3.1**) comparados com dados da literatura (CUYCKENS e CLAEYS, 2004; NUENGCHAMNONG e INKANINAN, 2009), sendo confirmada por cromatografia. Esse ácido fenólico apresentou uma banda de absorção com máximo em 270 nm, que é o $\lambda_{\text{máx}}$ característico dos ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxibenzóico. Além disso, o espectro de massas, obtido em ESI^- , com fragmento em m/z 169 e m/z 125, que corresponde à perda de uma molécula de CO_2 (44 u), contribuiu para a identificação desse ácido, uma vez que o padrão analisado nas mesmas condições apresentou as mesmas características na análise por espectrometria de massas (dados não mostrados). Em relação ao **pico 2**, o ácido protocatecuico foi identificado por cromatografia com padrão, sendo que as características dos espectros de absorção UV-visível ($\lambda_{\text{máx}} = 254$ nm) e de massas ($[M-H]^-$ com m/z a 153 e m/z a 109 (**TABELA 3.1**), estão de acordo com o esperado para esse ácido fenólico. Para o **pico 3**, o íon m/z 93 é resultado da perda de 44 u, equivalente a eliminação de uma unidade de CO_2 a partir do íon m/z a 137, que corresponde ao ácido 4-hidroxibenzóico. O perfil ESI/MS do **pico 4**

apresentou um íon molecular $[M]^-$ a m/z 167 e dois fragmentos a 152 u e 135 u; identificando o composto como ácido vanílico. Além disso, esse composto apresentou banda máxima de absorção no UV-visível a 254 nm, característica dos ácidos fenólicos derivados do ácido hidroxibenzoico. No caso do ácido 5-cafeoilquínico (**pico 5**), os íons m/z 353 e m/z 191 indicam a perda de uma hexose $[M-162]^-$ da molécula. O **pico 6** foi caracterizado como ácido cafeico, compreendendo os íons m/z 179 e m/z 135, decorrente da perda de uma massa de 44 u (grupo carbonila). O perfil ESI/MS do **pico 7** apresentou um íon molecular $[M]^-$ a m/z 197 e fragmento a 182 u. O pico 7 foi definitivamente identificado como ácido sirínico por coeluição por HPLC com padrão. O **pico 8** foi identificado como ácido *p*-cumárico, com fragmentos de íons a m/z 163 e m/z 119. O **pico 9** apresentou fragmentos a m/z 222 e m/z 178, sendo assim, este composto foi designado como ácido sinapínico. Por fim, o espectro de MS/MS do ácido ferúlico (**pico 10**), apresentou um íon m/z 193 e um íon m/z 149, resultante da perda de 44 u, que corresponde a uma unidade do grupo carbonila. É interessante notar que na fração solúvel, os dois principais picos de antocianinas foram também identificados. Cabe ressaltar que o Capítulo 2 tratou de forma detalhada a identificação e quantificação dessas antocianinas, e por esse motivo, aqui não serão dados maiores detalhes sobre esses dois picos.

É possível observar que no cromatograma da fração solúvel e da fração insolúvel (**FIGURA 3.1-B** e **FIGURA 3.1-C**) apareceram muitos picos sem identificação. O aparecimento desses picos pode ser explicado pela não purificação dos extratos. De acordo com Gharras (2009), os ácidos fenólicos são componentes de estruturas complexas como ligados aos taninos hidrolisáveis apresentando-se nas formas esterificadas, glicosiladas. Por isso, extratos contendo ácidos fenólicos, muitas vezes, necessitam ser purificados a fim de permitir melhor e mais refinada identificação.

As conclusões gerais relativas aos ácidos fenólicos em frutos de juçara estão de acordo com outro estudo publicado. Borges et al. (2011) avaliaram frutos de juçara pelo método de HPLC-DAD e encontraram ácido ferúlico, gálico, protocatecuico e *p*-cumárico. Os mesmos autores relataram ainda catequina, epicatequina e quercetina como os principais flavonóides presentes em frutos de juçara.

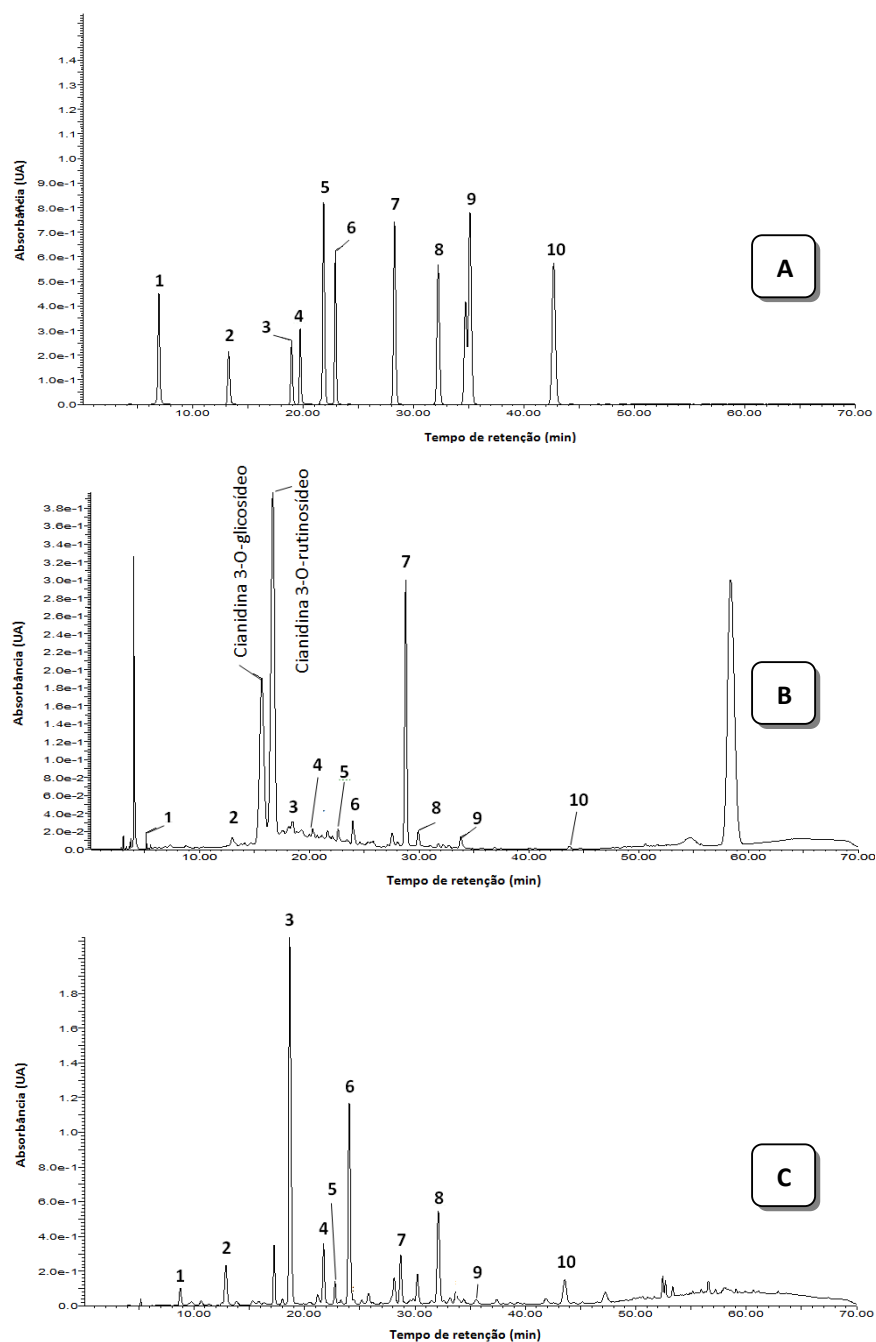
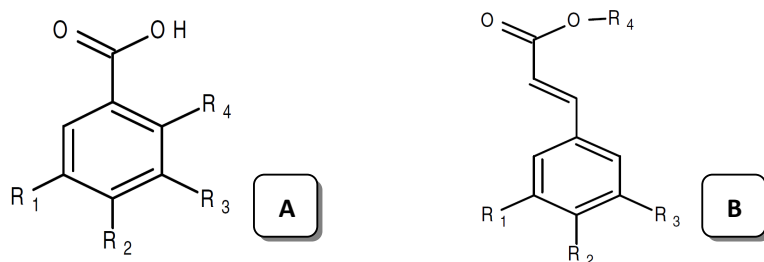


FIGURA 3.1 – Perfil cromatográfico obtido por HPLC da mistura dos padrões de ácidos fenólicos (A), da fração fenólica solúvel (B) e da fração fenólica insolúvel (C), registrados em 280 nm, para frutos de juçara (*Euterpe edulis*) da sexta colheita (C6).

Nota: Os ácidos fenólicos são: pico 1: ácido gálico; 2: ácido protocatecuico; 3: ácido 4-hidroxibenzóico; 4: ácido vanílico; 5: ácido 5-cafeoilquínico; 6: ácido cafeico; 7: ácido siríngico; 8: ácido *p*-cumárico; 9: ácido sinapínico; 10: ácido ferúlico. Condições cromatográficas são descritas no texto.



Derivados de ácidos benzóicos		Pico	R1	R2	R3	R4
Ácido gálico	1	OH	OH	OH	H	
Ácido protocatecuico	2	H	OH	OH	H	
Ácido 4-hidroxibenzóico	3	H	H	H	OH	
Ácido vanílico	4	OCH3	OH	H	H	
Ácido sirínico	7	OCH3	OH	OCH3	H	
Derivados de ácidos cinâmicos						
Ácido 5-cafeoilquínico	5	H	OH	OH		Ácido quínico
Ácido cafeico	6	H	OH	OH	H	
Ácido <i>p</i> -cumárico	8	H	OH	H	H	
Ácido sinapínico	9	OCH3	OH	OCH3	H	
Ácido ferúlico	10	OCH3	OH	H	H	

FIGURA 3.2 – Estruturas químicas dos ácidos fenólicos identificados em frutos de juçara (*Euterpe edulis*): (A) ácidos benzóicos e (B) ácidos cinâmicos

TABELA 3.1 – Tempo de retenção, absorção máxima, massa molecular desprotonada, íons produzidos, e nome do composto dos picos 1–10

Pico	TR (min)	$\lambda_{\text{máx}}$	MS/MS (m/z)	Composto
1	5,30	270	169, 125	Ácido gálico
2	12,95	254	153, 109	Ácido protocatecuico
3	18,47	254	137, 93	Ácido 4-hidroxibenzóico
4	19,70	254	167, 152	Ácido vanílico
5	22,84	329	353, 191	Ácido 5-cafeoilquínico
6	23,61	329	179, 135	Ácido cafeico
7	28,77	280	197, 182	Ácido siríngico
8	29,99	280	163, 119	Ácido <i>p</i> -cumárico
9	34,10	329	222, 178	Ácido sinapínico
10	43,32	329	193, 149	Ácido ferúlico

Nota: Compostos foram identificados como segue: pico 1: ácido gálico; 2: ácido protocatecuico; 3: ácido 4-hidroxibenzóico; 4: ácido vanílico; 5: ácido 5-cafeoilquínico; 6: ácido cafeico; 7: ácido siríngico; 8: ácido *p*-cumárico; 9: ácido sinapínico; 10: ácido ferúlico.

3.2. Quantificação dos ácidos fenólicos por HPLC

O conteúdo dos ácidos fenólicos totais em frutos de juçara (*Euterpe edulis*) durante as seis colheitas é apresentado na **TABELA 3.2**, sendo que a fração solúvel desses ácidos é expressa em percentagem (%).

Cabe ressaltar que, para cada colheita, os derivados de ácido benzóico (gálico, protocatecuico, 4-hidroxibenzóico, vanílico e siríngico) representaram, em média, 67% do total de ácidos fenólicos em frutos de juçara, enquanto os derivados de ácidos cinâmico (5-cafeoilquínico, cafeico, *p*-cumárico, sinapínico e ferúlico) foram encontrados em menor quantidade, representando, em média, 33% da quantidade total de ácidos fenólicos encontrados em frutos de juçara em cada colheita. O conteúdo de ácidos hidroxibenzóicos em plantas geralmente é muito baixo, com exceção de algumas frutas vermelhas. São componentes de estruturas complexas, assim como os taninos hidrolisáveis. Pelo fato de serem encontrados em poucas plantas que fazem parte da alimentação humana, os ácidos hidroxibenzóicos não são considerados de grande interesse nutricional (MANACH et al., 2004).

TABELA 3.2 – Conteúdo de ácidos fenólicos totais (mg de ácido fenólico equivalente/100g de polpa liofilizada) e percentagem da fração solúvel em polpa de frutos de juçara (*Euterpe edulis*) durante as seis colheitas

Pico	Colheitas					
	C1: 29/março Inicial/Violeta	C2: 12/abril Intermediário/Roxo	C3: 26/abril Intermediário/Roxo	C4: 10/maio Intermediário/Roxo	C5: 24/maio Final/Roxo escuro	C6: 7/junho Final/Roxo escuro
1	0,41 ± 0,02 ^{DE}	0,65 ± 0,08 ^{BC}	0,98 ± 0,11 ^A	0,75 ± 0,03 ^B	0,53 ± 0,05 ^{CD}	0,31 ± 0,02 ^{EF}
2	2,59 ± 0,14 ^C	2,64 ± 0,17 ^C	2,54 ± 0,13 ^C	3,20 ± 0,11 ^B	3,73 ± 0,23 ^A	3,80 ± 0,18 ^A
3	14,75 ± 0,21 ^A	14,72 ± 0,19 ^A	10,29 ± 0,11 ^B	9,92 ± 0,08 ^B	7,16 ± 0,14 ^C	6,47 ± 0,18 ^D
4	2,96 ± 0,12 ^C	2,91 ± 0,14 ^C	2,66 ± 0,18 ^C	3,49 ± 0,21 ^B	3,88 ± 0,11 ^{AB}	3,97 ± 0,09 ^A
5	2,51 ± 0,06 ^A	2,48 ± 0,10 ^A	1,85 ± 0,08 ^B	1,65 ± 0,09 ^B	1,31 ± 0,01 ^C	1,33 ± 0,02 ^C
6	0,85 ± 0,02 ^A	0,84 ± 0,03 ^A	0,59 ± 0,02 ^B	0,38 ± 0,01 ^C	0,36 ± 0,02 ^C	0,21 ± 0,01 ^D
7	9,84 ± 0,15 ^A	8,59 ± 0,13 ^B	7,52 ± 0,09 ^C	7,55 ± 0,14 ^C	6,57 ± 0,11 ^D	4,70 ± 0,12 ^E
8	3,11 ± 0,18 ^A	2,82 ± 0,13 ^A	2,40 ± 0,12 ^B	2,28 ± 0,06 ^B	1,35 ± 0,02 ^C	1,03 ± 0,01 ^D
9	2,61 ± 0,11 ^{CD}	2,79 ± 0,14 ^{BC}	2,44 ± 0,07 ^D	2,99 ± 0,05 ^{AB}	3,16 ± 0,12 ^A	3,22 ± 0,09 ^A
10	4,62 ± 0,13 ^B	3,54 ± 0,12 ^C	3,63 ± 0,08 ^C	4,52 ± 0,09 ^B	5,61 ± 0,15 ^A	5,92 ± 0,11 ^A
Total	44,27 ± 1,17 ^A	41,99 ± 1,24 ^A	34,92 ± 1,02 ^{BC}	36,74 ± 0,79 ^B	33,67 ± 0,98 ^{CD}	30,95 ± 0,86 ^D
Fração solúvel (%)	46,87	47,65	48,54	53,23	54,16	48,74

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. .^{A-E} Letras sobrescritas diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. Compostos foram identificados como segue: pico 1: ácido gálico; 2: ácido protocatecuico; 3: ácido 4-hidroxibenzóico; 4: ácido vanílico; 5: ácido 5-cafeoilquínico; 6: ácido cafeico; 7: ácido sirínico; 8: ácido *p*-cumárico; 9: ácido sinapínico; 10: ácido ferúlico.

Na **TABELA 3.2** pode-se observar uma tendência de decréscimo no conteúdo de ácidos fenólicos totais entre a primeira colheita (C1: 44,27 mg de ácido fenólico equivalente/100g de polpa liofilizada), onde os frutos apresentavam-se no estágio inicial de maturação e a última colheita (C6: 30,95 mg de ácido fenólico equivalente/100g de polpa liofilizada), caracterizada por frutos maduros e de coloração roxo escuro. Com o amadurecimento, ocorre o decréscimo no conteúdo de ácidos fenólicos, devido à utilização como fonte de energia no processo respiratório celular e, também, como fonte de carbono na síntese de açúcares. Segundo Gruz *et al.* (2011), o decréscimo do conteúdo de ácidos fenólicos durante o amadurecimento é devido as reações de polimerização, oxidação e conjugação que ocorrem no fruto.

A soma dos ácidos fenólicos das frações solúvel e insolúvel em todas as colheitas foi em média 37,09 mg/100g de polpa liofilizada, sendo que a fração solúvel representou uma parte importante, contribuindo com cerca de 50% desse total. Os ácidos fenólicos predominantes nessas amostras foram o ácido 4-hidroxibenzóico, seguido do ácido sirínico e do ácido ferúlico. Os ácidos fenólicos que se apresentaram em menores quantidades em todas as colheitas foram o ácido gálico e o ácido cafeico. Borges (2010) também identificou e quantificou maiores teores de ácidos hidroxibenzóicos do que ácidos hidroxicinâmicos em frutos de juçara de Santa Catarina.

O perfil de compostos fenólicos, especialmente antocianinas e ácidos fenólicos, entre os frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) e os frutos de juçara (*Euterpe edulis*) são semelhantes. Alguns estudos demonstram a presença de ácidos fenólicos em polpa de açaí como o ácido protocatecuico, gálico, elágico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico, ferúlico, e seus derivados de ácidos gálico e de ácido elágico (DEL POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004; SCHAUSS *et al.*, 2006; PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2008; PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2009; GORDON *et al.*, 2012).

Borges *et al.* (2011), estudando os compostos fenólicos de frutos de juçara (*Euterpe edulis*) provenientes de cinco diferentes regiões de Santa Catarina (Barra Velha, Garuva, Luís Alves, Parque e Urussanga), encontraram ferúlico, gálico, protocatecuico e *p*-cumárico como os principais ácidos fenólicos nesses frutos. Considerando que os autores quantificaram em termos de peso de fruto fresco, o conteúdo de ácido ferúlico variou de 1,48 a 8,16, o de ácido gálico variou de 7,97 a 52,25, o de ácido protocatecuico variou de 6,29 a 33,32 e o ácido *p*-cumárico variou de 0,38 a 1,26 mg/100g de fruto fresco, dependendo da região de origem do fruto.

Segundo Gobbo-Neto e Lopes (2007), existem vários fatores que podem interferir no conteúdo de metabólitos secundários nas plantas, dos quais os ácidos fenólicos fazem parte. Dentre estes estão a sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, disponibilidade de nutrientes, danos mecânicos e ataque de patógenos. Llorach *et al.* (2008), também destacam que diferenças nas condições agrônômicas e ambientais pode afetar o conteúdo de fenólicos presentes nos vegetais.

3.3. Atividade antioxidante das frações solúvel e insolúvel

DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é um radical livre estável devido a um elétron desemparelhado que também previne sua dimerização, fenômeno observado com outros radicais livres (MOLYNEUX, 2004). O teste fotométrico de atividade antioxidante baseia-se na captura do radical DPPH. O método de capacidade de absorção do radical oxigênio, ou ORAC, verifica a capacidade sequestradora de um antioxidante frente à formação de um radical peroxila induzido pelo 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorato (AAPH) a 37°C (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005). As atividades sequestradoras do DPPH• e do ORAC das frações solúveis e insolúveis do extrato bruto de frutos de juçara são mostradas na **TABELA 3.3**.

De modo geral, a atividade antioxidante da fração solúvel foi maior que da fração insolúvel para todas as colheitas. Pode-se observar também que o método ORAC apresentou maior atividade antioxidante que o método DPPH. Isso pode ser atribuído ao fato de que o ensaio ORAC, usando fluoresceína, mede a atividade antioxidante dos componentes hidrofílicos e lipofílicos da amostra, usando – β -ciclodextrina metilada, que aumenta a solubilidade em água dos compostos lipossolúveis, pois é uma molécula anfipática (HUANG *et al.*, 2002; WU *et al.*, 2004). Além disso, no método ORAC, os radicais livres da decomposição térmica do AAPH são gerados em uma taxa constante durante todo o teste, sendo então, o ORAC o único método que combina o tempo de inibição e a percentagem (%) de inibição da ação do radical pelo antioxidante, permitindo a medida total dos radicais gerados (TABART *et al.*, 2009).

Em relação ao método DPPH, Cao e Prior (1998) destacam que a baixa razão molar entre os reagentes pode reduzir ou equilibrar o aumento na produção de espécies radicalares. Além disso, a quantificação da atividade antioxidante é feita através do percentual de inibição em um tempo fixo, sem considerar o tempo de duração da inibição.

TABELA 3.3 – Atividade antioxidante das frações solúvel e insolúvel dos frutos de juçara colhidos entre os meses de março e junho

Colheitas	DPPH·		ORAC	
	Solúvel	Insolúvel	Solúvel	Insolúvel
C1: 29/março – Inicial/Violeta	456,89 ± 4,25 ^E	198,58 ± 2,58 ^A	721,27 ± 7,98 ^D	366,81 ± 7,49 ^E
C2: 12/abril – Intermediário/Roxo	520,97 ± 3,60 ^B	205,17 ± 2,88 ^A	742,63 ± 8,54 ^D	435,75 ± 8,98 ^C
C3: 26/abril – Intermediário/Roxo	521,87 ± 3,45 ^B	187,54 ± 2,15 ^B	1032,74 ± 8,16 ^B	531,45 ± 7,37 ^B
C4: 10/maio – Intermediário/Roxo	512,88 ± 2,13 ^C	212,01 ± 3,25 ^A	863,70 ± 8,39 ^C	402,56 ± 6,89 ^D
C5: 24/maio – Final/Roxo escuro	598,38 ± 3,58 ^A	146,91 ± 2,67 ^C	872,94 ± 9,21 ^C	412,12 ± 6,76 ^D
C6: 7/junho – Final/Roxo escuro	502,79 ± 1,98 ^D	200,42 ± 3,91 ^A	1475,98 ± 10,11 ^A	595,57 ± 8,37 ^A

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. DPPH e ORAC são expressos em µmol de equivalente capacidade antioxidante a Trolox por g de polpa liofilizada (µmol Trolox/g). ^{A-E} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

Na **TABELA 3.3**, é possível observar que para a fração solúvel, a atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH variou de 456,89 a 598,38 μmol de Trolox/g de polpa liofilizada, enquanto pelo método ORAC a variação foi de 721,27 a 1475,98 μmol de Trolox/g de polpa liofilizada. A maior atividade antioxidante apresentada pela fração solúvel pode ser atribuída à presença de antocianinas. Tabart *et al.* (2009) avaliaram, pelos métodos de DPPH e ORAC, diferentes compostos fenólicos individuais (flavonóis, antocianinas, flavanonas, flavan-3-ols e ácidos fenólicos). Por ambos os métodos, os autores concluíram que antocianinas apresentaram atividade antioxidante significativamente superior ($p < 0,05$) aos ácidos fenólicos; concluíram também que o método ORAC apresentou maior especificidade do que o DPPH para todos os fenólicos testados.

Pelos dois métodos utilizados (DPPH e ORAC), a atividade antioxidante da fração insolúvel foi menor que a solúvel para todas as colheitas. Segundo Faulds e Williamson (1999), os ácidos fenólicos insolúveis encontram-se ligados a estruturas da parede celular, esterificados com arabinose ou resíduos de galactose dos componentes pécicos ou hemicelulósicos, e muitas vezes, não são totalmente contabilizados devido aos métodos insatisfatórios para a sua extração.

A atividade antioxidante dos frutos de juçara, medida por DPPH e ORAC, pode ter sido influenciada, ainda, por outros fatores, como concentração do composto, estrutura química do antioxidante e tipo de radical livre a ser neutralizado. Além disso, a interação entre os diferentes compostos fenólicos favorece o aumento ou diminuição da atividade antioxidante, conforme o efeito de sinergismo ou antagonismo dos compostos (HEO *et al.*, 2007; TABART *et al.*, 2009; HIDALGO, SÁNCHEZ-MORENO e PASCUAL-TERESA, 2010; TERPINC e ABRAMOVIC, 2010).

Pelas análises realizadas nesse estudo, não foi possível determinar qual ácido fenólico teve maior contribuição na capacidade antioxidante dos frutos de juçara. No entanto, a presença de ácidos como ferúlico e protocatecuico em frutos de juçara é interessante, já que esses ácidos são considerados de alta atividade antioxidante *in vitro*, embora uma ordenação dos ácidos fenólicos por atividade seja difícil, pois ela pode variar em função do solvente, da concentração dos reagentes e do mecanismo de ação (SOOBRAATTEE *et al.*, 2005). Além disso, uma efetiva capacidade antioxidante em sistemas biológicos requer que esses compostos sejam absorvidos e distribuídos nos tecidos, o que levanta a problemática da sua biodisponibilidade sob a influência da matriz alimentar.

É conhecido que a biodisponibilidade de compostos fenólicos depende da sua estrutura química, peso molecular e solubilidade. Os de menor peso molecular, em especial os ácidos fenólicos, parecem ser facilmente absorvidos no intestino delgado onde são conjugados para *o*-glicorunídeos, ésteres de sulfato e *o*-metiléter. A absorção tem sido demonstrada indiretamente pelo aumento da capacidade antioxidante do plasma (BOURNE e RICE-EVANS, 1998; ADAM *et al.*, 2002; SCALBERT *et al.*, 2002; TAPIERO *et al.*, 2002; ZHAO, EGASHIRA e SANADA, 2003 e 2004).

4. CONCLUSÃO

Por meio das análises HPLC-MS/MS foi possível identificar dez ácidos fenólicos em frutos de juçara, com destaque para os derivados de ácido benzóico. Para todas as colheitas, os ácidos 4-hidroxibenzóico, siríngico e ferúlico foram encontrados em maior quantidade. A análise antioxidante por diferentes metodologias mostrou-se importante como uma forma de melhor se avaliar esta propriedade biológica, já que não é possível afirmar que uma metodologia seja melhor que outra, uma vez que todas possuem vantagens e limitações. Os ácidos fenólicos foram encontrados principalmente na fração insolúvel, o que sugere maiores estudos relativos à sua biodisponibilidade e atividade antioxidante, a fim de elucidar possíveis efeitos biológicos no organismo humano.

CAPÍTULO 4

MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) COM DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE

MICROENCAPSULAÇÃO DA POLPA DE JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) COM DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, FRANCISCO PAULO CHAIMSOHN³,
RILTON ALVES DE FREITAS², ROSEMARY HOFFMANN RIBANI¹

1. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
2. Laboratório de BioPolímeros, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
3. Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, Ponta Grossa, PR, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi produzir microcápsulas de polpa de juçara por *spray-dryer* usando goma arábica, gelatina e maltodextrina como material de parede. Metodologia de superfície de resposta (RSM) foi utilizada para investigar o efeito da temperatura de secagem (140–190°C) e da proporção polpa:material de parede (5–55g/100g) na retenção de antocianinas nas microcápsulas. O aumento na temperatura do ar de entrada e a maior concentração de material de parede resultaram em menor retenção de antocianinas para goma arábica, gelatina e maltodextrina. A condição otimizada de processo para obtenção de microcápsulas ricas em antocianinas, para todos os materiais de parede, foram: temperatura do ar de entrada, 165°C; proporção do material de parede, 5g/100g de polpa de juçara. As análises de umidade, atividade de água, higroscopicidade, cor, densidade, solubilidade e tamanho de partícula foram realizadas nas micropartículas obtidas sob condições otimizadas. A degradação das antocianinas seguiu uma cinética de primeira ordem no estudo de estabilidade acelerada. A goma arábica apresentou o maior tempo de meia vida ($t_{1/2}$ =14,2 dias) e a menor taxa de degradação (K_{obs} =48,78x10⁻³/dia). A formação de micropartículas também foi observada por meio de microscopia eletrônica de varredura.

Palavras-chave: juçara, *Euterpe edulis*, antocianinas, *spray dryer*, material de parede.

MICROPARTICLES OF JUÇARA (*Euterpe edulis* M.) PULP PRODUCED WITH DIFFERENT POLYMER MATRICES

MILENE OLIVEIRA PEREIRA BICUDO¹, FRANCISCO PAULO CHAIMSOHN³,
RILTON ALVES DE FREITAS², ROSEMARY HOFFMANN RIBANI¹

1. Graduate Program in Food Engineer, Chemical Engineering Department, Federal University of Parana, P.O. Box 19011, 81531-980, Curitiba, PR, Brazil.
2. BioPol, Department of Chemical, Federal University of Parana, Curitiba, PR, Brazil.
3. Agricultural Research Institute of Parana, Ponta Grossa, PR, Brazil.

ABSTRACT

The objective of this study was to *spray dry* juçara pulp by using Arabic gum, gelatin and maltodextrin as carrier agents. Response surface methodology (RSM) was used to investigate the effect of drying temperature (140–190°C) and carrier agent concentration (5–55 g/100g of juçara pulp) on the anthocyanin retention in microparticles of juçara pulp. The increase in inlet air temperature and carrier agent concentration resulted in lower anthocyanin retention for Arabic gum, gelatin and maltodextrin. The best processing conditions to obtain anthocyanin-rich microparticles, for all carriers, were: inlet air temperature, 165°C; carrier agent concentration, 5 g/100g of juçara pulp. Moisture, activity water, hygroscopicity, color, bulk density, solubility and particle size distribution analysis were performed in microparticles obtained under optimal conditions. The degradation of the anthocyanins followed first-order kinetics in the situation evaluated. The Arabic gum presented the longest half-life time ($t_{1/2} = 14.2$ days) and lowest degradation constant ($k_{\text{obs}} = 48.78 \times 10^{-3} \text{ day}^{-1}$) for the condition evaluated. The formation of microparticles was observed through scanning electron microscopy.

Keywords: juçara, *Euterpe edulis*, anthocyanin, *spray drying*, carrier agents.

1. INTRODUÇÃO

As frutas, tal como os vegetais, fornecem quantidades importantes de vitaminas, minerais e fibras que desempenham um papel essencial na manutenção da saúde humana. Estes alimentos contêm ainda compostos bioativos que proporcionam benefícios à saúde, além da nutrição básica. Trata-se de compostos biologicamente ativos, não nutritivos e que apresentam atividade antioxidante, anti-mutagênica e anti-carcinogênica em diferentes sistemas (ALWAN *et al.*, 1988; CAI *et al.*, 2004; INDAP *et al.*, 2006; ROCHA-GUZMÁN *et al.*, 2007; MIRMIRAN *et al.*, 2009; ISMAIL *et al.*, 2012; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2013). O potencial dos compostos fenólicos em reduzir a ocorrência de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer é normalmente explicado pelos efeitos biológicos como antioxidantes (DISILVESTRO, 2001; CHAVEZ-SANTOSCOY, GUTIERREZ-URIBE e SERNA-SALDÍVAR, 2009; SLATNAR *et al.*, 2012;), antiestrogênicos (MIKSICEK, 1995; COLLINS-BUROW *et al.*, 2000) e inibidores da proliferação celular (KUNTZ, WENZEL e DANIEL, 1999; YÁÑEZ *et al.*, 2004). Existem estudos, porém, que relatam o efeito pro-oxidante destes em certas condições (SAHU e GRAY, 1996; DICKANCAITE *et al.*, 1998; WENZEL *et al.*, 2000; FELZENSZWALB *et al.*, 2013), sendo ainda necessárias mais pesquisas sobre este assunto.

Entre os bioativos estão incluídas as antocianinas, que são pigmentos naturais responsáveis pelas tonalidades de azul, violeta, vermelho e rosa, e que estão distribuídas em frutas e flores, podendo ser encontradas também em raízes, hastes e sementes (CLIFFORD, 2000). Elas atuam no sequestro do oxigênio singlete (KRINSKY, 2001) e reagem com radicais livres (POLYAKOV *et al.*, 2001; KRINSKY e YEUM, 2003) por apresentarem um sistema extenso de duplas ligações conjugadas. Estas insaturações, no entanto, as tornam instáveis dependendo do ambiente biológico onde atuam (polaridade do meio, tipo de matriz) e da presença de oxigênio, luz e calor (DELGADO-VARGAS e PAREDES-LOPEZ, 2003).

A microencapsulação tem a função de proteger o material encapsulado de fatores que possam vir a causar a sua deterioração, tais como oxigênio, luz ou umidade. Ela favorece o aumento da vida útil, da manutenção do sabor, aroma e da cor, além de reduzir a volatilidade, a higroscopicidade e a reatividade, aumentando a estabilidade do produto em condições adversas (RÉ, 1998)

A definição dos aspectos tecnológicos envolvidos na microencapsulação de antocianinas, as técnicas utilizadas e o estudo dos tipos de materiais de parede utilizados são o foco desta revisão bibliográfica.

1.1. Microencapsulação

A microencapsulação é uma técnica aplicada no empacotamento de sólidos, gotículas de líquidos ou material gasoso com finas coberturas poliméricas, formando pequenas partículas que podem liberar seu conteúdo sob condições específicas (TODD, 1970; REINECCIUS, 2004). O produto encapsulado é denominado de núcleo ou recheio, e o material que forma a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede (GIBBS *et al.*, 1999). Em função do tamanho das cápsulas formadas o processo é classificado em macro ($> 5000 \mu\text{m}$), micro ($0,2 - 5000 \mu\text{m}$) ou nano ($<0,2 \mu\text{m}$). Quanto à forma, as cápsulas são idealmente esféricas, embora seu formato seja influenciado pela estrutura original do ingrediente encapsulado (RISCH e REINECCIUS, 1988).

O desenvolvimento da tecnologia de microencapsulação e sua extensa aplicabilidade é fruto da necessidade constante que a indústria alimentícia demonstra em propriedades cada vez mais complexas nas formulações, e que muitas vezes só podem ser conferidas por meio dessa tecnologia (GIBBS *et al.*, 1999). A microencapsulação é uma alternativa para modificar as características de um produto, melhorar a aparência, proteger e prolongar a funcionalidade de um ingrediente. Para a indústria de alimentos, o uso dessa técnica reduz a reatividade do núcleo com o ambiente, diminui a velocidade de evaporação ou transferência do material do núcleo para o meio, facilita a manipulação do encapsulado, promove a liberação controlada, mascara odor e sabor desagradáveis, além de promover a diluição homogênea do material encapsulado em um produto alimentício (ANAL e SINGH, 2007).

Nas pesquisas com alimentos contendo pigmentos antociânicos, foram utilizadas predominantemente as tecnologias de microencapsulação por *spray drying*, *freeze-drying*, gelificação ionotrópica, evaporação múltipla de solvente/emulsão e extrusão. Dentre as técnicas de microencapsulação existentes, a mais utilizada na indústria de alimentos é a de secagem por atomização (*spray drying*), por ser um processo econômico e flexível, realizado em um equipamento de fácil acesso e resultando em partículas de qualidade (DZIEZAK, 1988).

1.2. Material de parede

A escolha do agente encapsulante ou material de parede depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal. Muitos materiais podem ser utilizados como cobertura para as microcápsulas, dentre eles goma arábica, alginato, amido, amido modificado, dextrinas, sacarose, celuloses, mono e diacilgliceróis, óleos e gorduras, caseína, gelatina e os materiais inorgânicos como sulfato de cálcio e silicatos (JACKSON e LEE, 1991).

1.2.1. Goma Arábica

A goma arábica ou acácia é um exsudato gomoso obtido dos galhos e troncos da *Acacia senegal* e outras espécies de acácia da família Fabaceae, de origem africana. A estrutura química desse polissacarídeo é complexa e muito ramificada, cuja cadeia principal é formada por unidades de galactose e ramificações secundárias de arabinose, ramnose, galactose e ácidos glucurônicos (GLICKSMAN, 1989; BE MILLER; WHISTLER, 1996). O conteúdo de proteínas é próximo de 2%, sendo essa fração proteica a responsável pela propriedade emulsificante da goma arábica (DICKINSON, 2003). Esta goma é usada nas microencapsulações de compostos lipofílicos, por apresentar excelente propriedade emulsificante (BERTOLINI *et al.*, 2001), formando emulsões estáveis (SHAIKH *et al.*, 2006), e habilidade de formar filmes (DICKINSON, 2003). Além disso, a goma arábica é a única entre as gomas alimentícias que apresenta alta solubilidade e baixa viscosidade em solução, o que facilita o processo de atomização (ROSENBERG *et al.*, 1990). A goma arábica produzida industrialmente é purificada por simples processo físico de centrifugação e filtração, sem qualquer modificação química ou enzimática. O produto final é comercializado na forma pó ou granulada, obtido por processo de secagem em *spray-dryer*.

No Brasil, a goma arábica é classificada como ingrediente funcional (fibra prebiótica solúvel) e como aditivo (INS 414) com a função estabilizante, espessante e emulsificante. A principal propriedade da goma arábica é dar textura aos produtos alimentícios. Pode ser utilizado na estabilidade de emulsões, controle de viscosidade, cristalização, suspensão de partículas, inibição da liberação de água dos produtos alimentícios processados, podendo também funcionar como importante agente encapsulante (GLICKSMAN, 1989).

Por ser um ingrediente muito caro e a sua capacidade emulsificante (teor de proteínas) variar com os lotes, a goma arábica está sendo substituída por outros materiais de parede como: gelatina + sacarose (SHU *et al.*, 2006); isolado protéico de leite + dextrina DE 18-20 (AHN *et al.*, 2008); amidos modificados (WAGNER e WARTHESEN, 1995; DRUSCH e SCHWARZ, 2006; LOKSUWAN, 2007); pectina (DRUSCH, 2007), e concentrado protéico de ervilha (PIERUCCI *et al.*, 2007).

1.2.2. Maltodextrina

A maltodextrina é um hidrolisado de amido que consiste em unidades de glucose unidas principalmente por ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4). As maltodextrinas são produzidas industrialmente por hidrólise ácida ou enzimática, ou a combinação de ambas, principalmente do amido de milho. As maltodextrinas são caracterizadas por sua dextrose equivalente (DE) e seu grau de polimerização (DP). O $DE = 100/DP$ é uma medida do inverso do número de unidades de α -D-glicose anidro. Assim, as propriedades das maltodextrinas estão ligadas ao DE e ao DP, que variam de acordo com o grau de hidrólise durante o processamento do amido (KENNEDY, KNILL e TAYLOR, 1995).

A dextrose usada como padrão é o amido (DE = 0) e a glicose (DE = 100). A definição de maltodextrina é todo amido hidrolisado com valores de dextrose equivalente (DE) entre 3 e 20. O valor do DE reflete na sua estabilidade e funcionalidade. A maltodextrina DE 20 é pouco higroscópica, não apresenta doçura e contribui como agente de corpo para formulações alimentícias. As maltodextrinas estão disponíveis comercialmente na forma de um pó branco, solúvel em água fria e apresentam baixa densidade (BE MILLER e WHISTLER, 1996).

As maltodextrinas fornecem 4 kcal/g de energia e são frequentemente usadas como agentes encapsulantes na proteção de ingredientes sensíveis a fatores ambientais, por formarem paredes de superfícies lisas em microcápsulas esféricas (DIB TAXI *et al.*, 2003) e apresentarem boa eficácia e baixo preço (DESOBRY *et al.*, 1999). Além dessa propriedade tecnológica, as maltodextrinas também são utilizadas como substituto de gorduras, agentes gelificantes e espessantes, para prevenir a cristalização, auxiliar na dispersibilidade e controlar o congelamento (CHRONAKIS, 1998). As maltodextrinas apresentam deficiência na propriedade emulsificante, o que não representa um problema se o material a ser encapsulado for solúvel em água ou se utilizar um emulsificante

adicional. Dessa forma, as maltodextrinas são utilizadas para secagem de sucos concentrados de frutas, aromatizantes, edulcorantes e enzimas (REINECCIUS, 2004).

1.2.3. Gelatina

A gelatina é uma proteína hidrossolúvel de origem animal, obtida por hidrólise ácida (tipo A) ou básica (tipo B) do colágeno encontrado nos tecidos conectivos. Comercialmente, pele e ossos de diferentes espécies de animais, como bovinos, suínos, peixes e aves, são fontes de matéria-prima para produção de gelatina. A gelatina é caracterizada por sua força de gel (*Bloom*) e processo de extração utilizado na sua fabricação. A gelatina hidrata facilmente em água morna ou quente e fornece soluções de baixa viscosidade (HAUG *et al.*, 2004; STEVENS, 2009). Quimicamente, a gelatina é um polímero de alto peso molecular, cujas unidades básicas são os aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas. A glicina constitui um terço dos aminoácidos da gelatina, outros 22% de prolina e hidroxiprolina e 45% estão distribuídos em 17 aminoácidos diferentes. As gelatinas comestíveis contêm entre 86% e 90% de proteínas, 1% a 2% de sais minerais e água. Não contêm carboidratos e gorduras. O produto comercial está na forma de pó ou grânulos incolores ou levemente amarelados, apresenta odor característico e sabor pouco pronunciado (LEDWARD, 2000). O nome gelatina deriva do termo em latim *gelata* que significa firme, rígido e gelado, o que descreve a mais importante característica da gelatina que é formar gel em água (LEDWARD, 2000). A gelatina é amplamente utilizada na indústria de alimentos e o interesse em seu uso é devido às suas propriedades multifuncionais como a habilidade de formar géis estáveis e reversíveis (SEGTAN e ISAKSSON, 2004). Outras propriedades da gelatina incluem estabilização, emulsificação, aeração e controle da textura em formulações alimentícias (STEVENS, 2009).

1.3. Microencapsulação por *spray drying* de antocianinas padrões ou isoladas

Na **TABELA 4.1** são apresentadas pesquisas realizadas com matérias primas ricas em antocianinas e que foram microencapsuladas por *spray drying*. Ersus e Yurdagel (2007) estudaram a microencapsulação por *spray drying* de antocianinas extraídas de cenoura negra (*Daucus carota* L.), utilizando diferentes temperaturas de secagem (160, 180 e 200°C) e maltodextrinas com diferentes DEs (10, 20 e 30). Os autores observaram que, para as maltodextrinas de maior DE, os ensaios realizados a

160°C apresentaram maior retenção de antocianinas do que os demais (que não apresentaram diferença significativa entre si). No caso da maltodextrina 10DE, a temperatura não apresentou efeito estatisticamente significativo sobre a retenção de antocianinas.

Tonon, Brabet e Hubinger (2008) também observaram que a temperatura do ar de secagem apresentou influência significativa sobre a retenção de antocianinas na polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) microencapsulada. O aumento desta variável (de 138°C para 202°C) resultou em menor retenção de antocianinas. O aumento na concentração de maltodextrina (de 10% para 30%) não apresentou diferença significativa na eficiência de microencapsulação. Os autores concluíram que a retenção de antocianinas foi influenciada apenas pela temperatura do ar de secagem.

Para o microencapsulamento de suco de romã, por *spray drying*, com maltodextrina e proteína isolada de soja, Robert *et al.* (2010) observaram que a retenção de antocianinas foi influenciada significativamente apenas pelo tipo de material de parede utilizado. Comparada à proteína isolada de soja, a maltodextrina foi o agente carreador que melhor reteve o pigmento antociânico, além disso, conferiu maior estabilidade ao produto em pó testado em condições de armazenamento acelerado: 60°C num período de 56 dias na ausência de luz.

Jiménez-Aguilar *et al.* (2011), trabalhando com secagem de polpa de mirtilo e goma de algaroba como material de parede, também verificaram uma maior perda de antocianinas com o aumento da temperatura de 140°C para 160°C. Os autores também observaram que as amostras produzidas em temperaturas menores apresentaram maior estabilidade ao armazenamento ao final de 4 semanas de estocagem a 4°C na ausência de luz do que aquelas amostras que ficaram a 25°C, analisadas tanto na presença quanto na ausência de luz.

Ferrari, Ribeiro e Aguirre (2012) avaliaram a influência da temperatura do ar de secagem (160 ou 180°C) e da concentração de maltodextrina (5, 15 ou 25%) sobre as características físico-químicas do suco de amora-preta em pó, produzido por *spray drying*. Os autores relataram que a retenção de antocianinas foi cerca de 80% apenas para as amostras produzidas com 5% de maltodextrina e temperatura de secagem de 160°C, enquanto que nos ensaios realizados com 15 e 25% de maltodextrina, e temperatura de 180°C, foi constatada uma retenção em torno de apenas 69% dos pigmentos da amora-preta após a secagem.

TABELA 4.1 – Parâmetros técnicos e resultados da microencapsulação por *spray drying* de materiais contendo antocianinas

Fonte de antocianina	Material de parede	Temperatura (°C)		EM*	Resultados principais	Referências
		Entrada	Saída			
Cenoura negra (<i>Daucus carota</i> L.)	Stardri 10 (10DE) Glucodry 210 (20–23DE) MDX 29 (28–31 DE)	160 180 200	107±2 118±2 131±2	NC**	O uso de temperaturas >160°C causaram perdas significativas de antocianinas. Glucodry 210 foi a maltodextrina que melhor encapsulou o pigmento.	Ersus e Yurdagel (2007)
Açaí (<i>Euterpe oleraceae</i>)	10% MOR-REX® 1910 20% MOR-REX® 1910 30% MOR-REX® 1910	140 170 200	82 ± 2 97 ± 2 112 ± 2	> 77,21 < 86,01	O aumento da temperatura de secagem resultou em menores umidades, menor retenção de antocianinas e maiores higroscopicidades. O aumento na concentração de maltodextrina reduziu a higroscopicidade dos pós, confirmando a eficiência deste material como agente carreador.	Tonon, Brabet e Hubinger (2009)
Romã (<i>Punica granatum</i>)	Maltodextrina Proteína isolada de soja	160 140	153 120	86,6 58,5	A maltodextrina apresentou melhor eficiência de microencapsulação a proteína isolada de soja. Segundo os autores, a temperatura não teve efeito significativo sobre a retenção de antocianinas para qualquer um dos materiais de parede.	Robert et al. (2010)
Mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	Goma de algaroba	140 160	80 ± 2 95 ± 2	NC	A secagem na temperatura de 140°C promoveu melhor retenção do pigmento. A goma de algaroba mostrou ser um eficiente agente protetor de cor quando o produto foi exposto a luz (3000 lux) e temperatura de 4°C durante 4 semanas.	Jiménez-Aguilar et al. (2011)
Amora – preta (<i>Rubus fruticosus</i>)	5% Maltogill® 20DE 15 % Maltogill® 20DE 25% Maltogill® 20DE	160 180	105–109 112–117	> 69,09 < 80,56	O aumento da temperatura do ar de secagem resultou em pós menos úmidos e com menor atividade de água, porém mais higroscópicos e com menor conteúdo de antocianinas. O ensaio realizado à temperatura de 160°C com 5% de maltodextrina foi o mais efetivo na manutenção do teor de antocianinas do suco de amora preta em pó.	Ferrari, Ribeiro e Aguirre (2012)

*EM: Eficiência de Microencapsulação, expressa em percentagem (%); **NC: não consta

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras e material de parede

Os frutos maduros de juçara foram coletados na safra de 2011, na estação experimental do Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR) na cidade de Morretes – PR. Depois de colhidos, os frutos sadios foram lavados em água clorada (50 mg/L de cloro ativo) e despulpados mecanicamente com adição de cerca de 0,6 L de água/kg de fruto. Então, a polpa foi colocada em sacos de polietileno, com espessura de 40 μm , e imediatamente congelada a -18°C . A polpa congelada foi transportada até o laboratório de Química Analítica da Universidade Federal do Paraná, onde foi armazenada em congelador para ser utilizada num período máximo de um mês. A etapa de secagem por atomização foi realizada no laboratório de Biopolímeros, pertencente ao Programa de Pós Graduação em Química, da Universidade Federal do Paraná.

Os materiais de parede utilizados foram: goma arábica, doada pela Colloïds Naturels Brazil – Instant Gum BA®, São Paulo, SP; gelatina, adquirida da Rousselot do Brazil - Rousselot® 120 PS 30, Amparo, SP e maltodextrina DE 20 MOR-REX® 1920, Corn Product Brazil, Mogi Guaçu, SP.

2.2. Delineamento experimental

Foi utilizado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para avaliar simultaneamente os efeitos da temperatura de entrada no *spray dryer* e da proporção polpa:material de parede sobre a concentração de antocianina nos pós produzidos, utilizando o planejamento 2^2 , incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central, executados por ordem de sorteio (**TABELA 4.2**). A variação da temperatura do ar de secagem foi definida a partir da configuração do equipamento e a proporção polpa:material de parede foi feita com base em ensaios preliminares (dados não mostrados). No caso da gelatina, os ensaios preliminares indicaram que 15g de gelatina/100g de polpa de juçara foi a concentração limite para o encapsulamento, já que valores acima dessa concentração levaram à solidificação da gelatina a temperatura ambiente (25°C) e conseqüentemente, o entupimento do bico atomizador. Os resultados foram analisados estatisticamente, utilizando-se o software Statistica, versão 7.1 (StatSoft, Inc., USA). A análise de variância (ANOVA) com o teste de Fisher (5%) foi

utilizada para determinar a significância dos modelos obtidos e a adequação dos modelos na obtenção das superfícies de resposta. A resposta medida foi a concentração de antocianinas retida em toda a micropartícula.

TABELA 4.2 – Fatores e níveis (valores codificados entre parênteses) para o Delineamento Composto Central Rotacional.

Fatores*	Níveis codificados				
	Ponto axial	Nível	Nível	Nível	Ponto axial
	inferior	inferior	intermediário	superior	superior
	(-1,41)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,41)
Temperatura	140	147	165	183	190
Polpa:goma-Arábica	95:5	87,7:12,3	70:30	52,3:47,7	45:55
Polpa:maltodextrina	95:5	87,7:12,3	70:30	52,3:47,7	45:55
Polpa:gelatina	95:5	93,5:6,5	90:10	86,5:13,5	85:15

*Temperatura do ar de entrada é expressa em °C e a proporção de polpa:material de parede é expressa em percentagem (% , g/g).

2.3. Preparação das soluções e secagem em *spray dryer*

Antes da secagem, a polpa de juçara foi centrifugada por 15 min a 10°C e 8,000 x g (Sigma 4K15C, Germany), a fim de eliminar sólidos em suspensão, evitando assim o entupimento do bico atomizador, e diminuir o teor de gordura, o que reduz o risco de oxidação de lipídeos (o teor de lipídeos foi reduzido de $3,34 \pm 0,18\text{g}/100\text{g}$ para $0,71 \pm 0,11\text{g}/100\text{g}$). Além disso, o teor de antocianinas na polpa centrifugada aumentou (de $441,82 \pm 3,51$ para $971,92 \pm 4,85\text{mg}/100\text{g}$ em matéria seca). A polpa centrifugada e os materiais de parede foram pesados nas proporções relativas a cada ensaio (baseado no peso seco). A homogeneização das soluções em meio aquoso foi feita com o auxílio de homogeneizador Fisatom (Fisatom 713, Fisatom Ltda., São Paulo, Brasil), a 10.000rpm por 5 minutos e em temperatura ambiente. O *spray dryer* utilizado foi o modelo de escala laboratorial MSD 1.0 do fabricante Labmaq do Brasil (Ribeirão Preto, Brasil) com o bico do atomizador de 1 mm. A temperatura do ar de entrada variou de 140 a 190°C (TABELA 4.2), com pressão do ar de 0,06 MPa, fluxo do ar de secagem com $4,5 \times 10^4$ L/h e vazão mássica de alimentação de 0,3 L/h. As soluções foram mantidas a 30 °C durante a alimentação.

2.4. Caracterização química da polpa de juçara

As metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemicals* (AOAC, 2005) foram adotadas para a determinação do conteúdo de umidade, proteína total, lipídeos, cinzas, pH e acidez titulável (AT).

O conteúdo de umidade foi determinado por secagem em estufa a $105 \pm 5^\circ\text{C}$ até peso constante (AOAC, 940.26), e o conteúdo de proteínas, lipídios e cinzas foram determinados pelos métodos da AOAC (920.152), (933.05) (940.26), respectivamente.

O valor de pH foi determinado a $20 \pm 5^\circ\text{C}$, com um medidor digital de pH (Tecnopon mPA-210, Piracicaba, SP, Brasil), calibrado com tampões pH 4 e 7; e a acidez titulável (AT) foi quantificada por titulação com solução de NaOH 0,1 M e expressa como g ácido cítrico/100 g.

A atividade de água (aw) foi determinada utilizando um higrômetro (AquaLab CX-2, Decagon Devices Inc., Pullman, EUA) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Os parâmetros de cor foram determinados utilizando o sistema CIELAB (colorímetro Hunterlab, BrasEq, Jarinu, Brasil), onde L^* corresponde a claro/escuro, a^* para cromaticidade vermelho/verde e b^* para cromaticidade amarelo/azul. C^* para o croma métrico e H° para o ângulo de tonalidade foram calculados de acordo com a seguinte equação: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ e $H^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

2.5. Determinação de antocianinas e eficiência da microencapsulação

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado na polpa e nos produtos em pó utilizando o método espectrofotométrico descrito por Cinquanta, Di Matteo e Esti (2002) com algumas modificações. Cerca de 1,0 g da amostra foi extraída com uma solução de HCl/água/etanol (1/29/70) até descoloração (balão volumétrico de 100 mL). A mistura foi centrifugada por 25 min a $3,500 \times g$ (Excelsa™ II 206 BL, Fanem, Brazil) e registrada num espectrofotômetro UV-1600 (Pró-Análise, Brazil). A absorvidade molar (\mathcal{E}_{molar}) da cianidina 3-O- glicosídeo utilizada foi de 26,900 a 510 nm. O conteúdo de antocianinas totais foi expresso como mg de cianidina 3-O-glicosídeo (cyd-3-O-glu)/100 g de polpa seca.

A eficiência de microencapsulação foi calculada baseando-se na quantidade total de antocianinas na polpa microencapsulada em relação à pré-existente na polpa de juçara em base seca. A eficiência de microencapsulamento, em percentagem, foi usada como resposta para o desenho experimental.

2.6. Caracterização das micropartículas

A caracterização das micropartículas de polpa de juçara foi efetuada apenas naquelas produzidas sob as condições otimizadas de temperatura de entrada no *spray dryer* e da proporção polpa:material de parede.

A atividade de água (a_w) foi determinada utilizando um higrômetro (AquaLab CX-2, Decagon Devices Inc., Pullman, EUA) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Os parâmetros de cor foram determinados utilizando o sistema CIELAB (colorímetro Hunterlab, BrasEq, Jarinu, Brasil), onde L^* corresponde a claro/escuro, a^* para cromaticidade vermelho/verde e b^* para cromaticidade amarelo/azul. C^* para o croma métrico e H° para o ângulo de tonalidade foram calculados de acordo com a seguinte equação: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ e $H^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$.

O conteúdo de umidade dos pós foi determinado pelo método titrimétrico de Karl Fischer (FISCHER, 1935).

A densidade (ρ_{bulk}) foi medida pesando 2 g do pó de polpa de juçara e colocando numa proveta graduada de 50 mL. A densidade foi calculada por dividir a massa do pó pelo volume ocupado no cilindro (TONON, BRABET e HUBINGER, 2010).

A solubilidade do material encapsulado foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Cano-Chauca *et al.* (2005). Um grama do pó (em base seca) foi disperso em 100 mL de água destilada por agitação ($3,500 \times g$) por 5 min usando um agitador Fisatom 713 (Fisatom Ltda., Brazil). O pó disperso em água foi então centrifugado a $2,500 \times g$ por 10 min (Excelsa™ II 206 BL, Fanem, Brazil). Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi cuidadosamente pipetado e transferido para um cadinho de alumínio previamente pesado e então levado para estufa a 105°C por 5 h. A secagem continuou até peso constante, aproximadamente 2 h. A solubilidade dos pós (%) foi determinada pela diferença de peso.

A higroscopicidade foi determinada de acordo com o método descrito por Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Aproximadamente 1 g de cada amostra em pó foi colocada num ambiente de solução saturada de NaCl (75% de umidade relativa) a 25°C . Depois de sete dias, as amostras foram pesadas e a higroscopicidade foi expressa como g de umidade absorvida por 100g de sólidos secos (g/ 100g).

O diâmetro de partículas do pó de polpa de juçara foi determinado usando um granulômetro CILAS 1064, de 0.04 a 500 μm , usando água como solvente, a 25°C e a

morfologia das partículas foram avaliadas num microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6360LV model (Jeol Ltda., Japan).

2.7. Degradação das antocianinas

O estudo de estabilidade acelerada das antocianinas no material em pó foi realizado por adaptação do método descrito anteriormente por Brasil (2005). Brevemente, 1 g de amostra em pó foi colocada numa embalagem de polietileno de baixa densidade com espessura de 20µm medindo 5 cm x 5 cm. O sistema foi colocado em um dessecador contendo uma solução aquosa saturada de NaCl, para se obter uma umidade relativa de $75 \pm 5\%$, que permaneceu em estufa a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 30 dias. As amostras foram retiradas a cada cinco dias, e o teor de antocianinas foi determinado como descrito no item 2.5. Foram plotadas as curvas de concentração de antocianinas (% antocianinas residual) versus tempo (dias) e uma análise de regressão linear foi utilizada para determinar a adequacidade do modelo cinético de degradação das antocianinas. A constante de degradação (k_{obs}) foi determinada a partir da equação de primeira ordem (Equação 4) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foi calculado a partir da Equação 5.

$$[\text{antocianina}] = [\text{antocianina}]_0 * \exp(k_{\text{obs}} * t) \quad (\text{Equação 4})$$

$$t_{1/2} = \ln 2 / k_{\text{obs}} \quad (\text{Equação 5})$$

2.8. Análise estatística

Todas as análises foram feitas em triplicata, cada uma com três repetições. O teste para a falta de ajuste, a determinação dos coeficientes de regressão e a geração de três gráficos tridimensionais foram realizadas usando Statistica 7.1 software (StatSoft, Inc., USA). Os resultados da composição dos pós de polpa de juçara foram analisados por ANOVA usando SAS Software 9.3 version (SAS Institute Inc., U.S.A). O teste de Tukey, $p=0,05$, foi usado para avaliar diferenças significativas entre a média das análises.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização química da polpa

Antes da secagem por atomização, a polpa de juçara foi centrifugada a fim de eliminar sólidos em suspensão e evitar o entupimento do bico atomizador. A centrifugação também eliminou parte da gordura, evitando assim a rancificação do produto em pó, e concentrou o pigmento antociânico de interesse. Para fins comparativos, a caracterização química da polpa de juçara foi feita antes e depois da centrifugação. Os resultados das análises químicas das polpas de juçara antes e depois da centrifugação estão apresentados na **TABELA 4.3**.

TABELA 4.3 – Caracterização química da polpa de juçara (*Euterpe edulis*) antes e após o processo de centrifugação

Componente	Com sólidos	Sem sólidos
Água (g/100g bs)	86,68 ± 1,11	90,61 ± 1,85
Proteínas (g/100g bs)	6,23 ± 0,35	5,55 ± 0,31
Lipídeos (g/100g bs)	25,03 ± 1,18	7,79 ± 0,85
Cinzas (g/100g bs)	2,63 ± 0,10	3,39 ± 0,14
Acidez titulável (g ácido cítrico/100g bu).	0,28 ± 0,01	0,34 ± 0,02
Antocianinas totais (mg cyd-3-O-glu/100 g bs)	441,82 ± 3,51	971,92 ± 4,85
pH	5,16 ± 0,02	5,11 ± 0,03

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições.

Os resultados mostram que a polpa de juçara é constituída principalmente de água e lipídeos, tendo uma quantidade pequena de proteínas e cinzas. Além disso, a polpa de juçara apresentou um alto teor de antocianinas. Borges *et al.* (2011), estudando frutos de juçara provenientes de cinco diferentes regiões de Santa Catarina (Barra Velha, Garuva, Luís Alves, Parque e Urussanga), encontraram teores de antocianinas totais para o fruto de juçara variando de 42,4 a 1080,00 mg cyd-3-O-glu/100 g bs. Brito *et al.* (2007) analisaram o conteúdo de antocianinas de frutos de juçara obtidos na região de São Paulo e relataram teores de 2956 mg cyd-3-O-glu/100 g bs. A diferença na composição química de frutos de juçara produzidos no Paraná, em Santa Catarina ou

mesmo em São Paulo é explicada com base nos diferentes estádios de maturação que o fruto foi colhido, época do ano e local de colheita.

3.2. Morfologia e distribuição do tamanho das microcápsulas

Por meio das observações realizadas no microscópio eletrônico de varredura verificou-se a formação das microcápsulas com os materiais de parede utilizados (goma arábica, gelatina e maltodextrina), sendo que estas apresentaram morfologia característica de cada um destes materiais (**FIGURA 4.1**).

As microcápsulas produzidas com goma arábica apresentaram formato esférico, com tendência de formação de agregados de microcápsulas menores em torno das de maior diâmetro. A evidência de que o bico atomizador produziu gotas de tamanhos variados, foi o alto grau de aglomeração das partículas, resultando não apenas em colisão e aglomeração das partículas, mas também na inclusão de uma dentro da outra, conforme pode ser observado na **FIGURA 4.1–A**.

A presença de concavidade, ou encolhimento da superfície, é uma característica das microcápsulas produzidas por atomização com goma arábica como material de parede (ROSENBERG, TALMON e KOPELMAN, 1988; BERTOLINI, SIANI e GROSSO, 2001). O encolhimento da superfície ocorre quando a temperatura de secagem é relativamente baixa, fazendo com que a camada superficial permaneça úmida e flexível por mais tempo e, dessa forma, as microcápsulas murcham e enrugam quando resfriadas (ARCHERI, 1999; TRINDADE e GROSSO 2000). De acordo com Nijdam e Langrish (2006), quando a temperatura é suficientemente alta, a umidade evapora rapidamente e a superfície externa se torna seca e dura, de modo que as partículas não murcham quando o vapor formando dentro da microcápsula condensa.

A formação de aglomerados, ou agregados, pode favorecer maior retenção de material de recheio em seus interstícios (TRINDADE e GROSSO, 2000), e é uma propriedade comum em pós produzidos pela atomização com goma arábica (BHANDARI, 1992). Segundo Rosenberg, Talmon e Kopelman (1985), microcápsulas produzidas por atomização com goma arábica como material de parede são ocas, ficando o material encapsulado retido na parede destas e não no centro. No entanto, nesse trabalho, não foi possível analisar a face interna das microcápsulas.

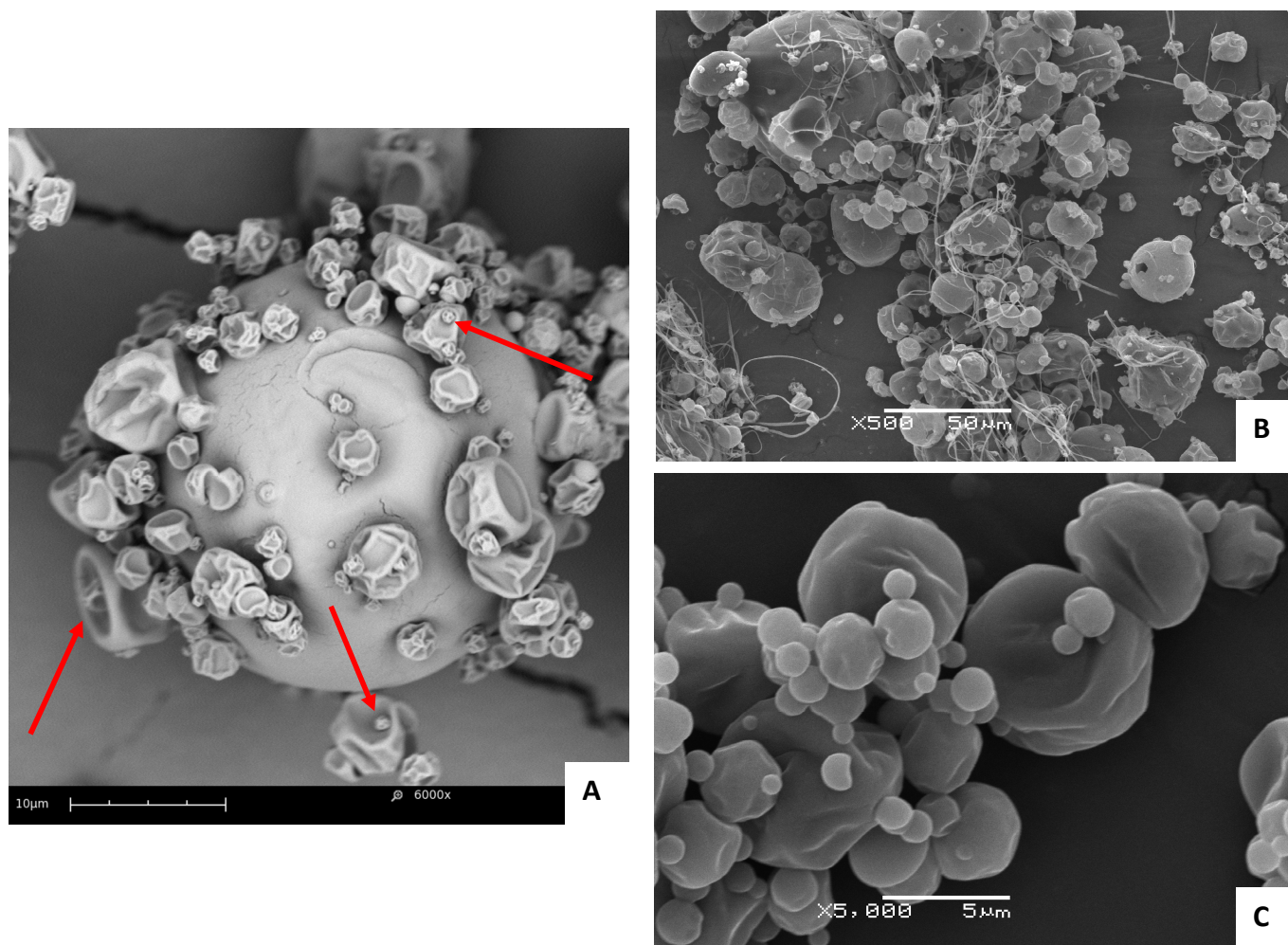


FIGURA 4.1 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura de microcápsulas de polpa de juçara obtidas por *spray drying* a 165°C, com 95% de polpa de juçara e 5% de goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C).

A atomização da mistura de gelatina e polpa de juçara (**FIGURA 4.1-B**) promoveu a formação de microcápsulas de variados tamanhos, com tendência para a formação de aglomerados. As superfícies das microcápsulas foram predominantemente lisas e esféricas, embora algumas tenham apresentado superfície levemente encolhida. É possível observar a presença de fios entre as microcápsulas, o que pode ser atribuído às características de geleificação do material de parede utilizado. A formação de uma rede tridimensional de gel, a partir de gelatina, ocorre pela nucleação entre as seções ricas em aminoácidos, sendo que o gel obtido consiste em longas cadeias lineares, cada uma delas com ligações cruzadas com outras moléculas e em diversas posições no decorrer da cadeia (DAMODARAN *et al.*, 2010; WONG, 1995).

As microcápsulas de maltodextrina (**FIGURA 4.1-C**) apresentaram morfologia característica com paredes contínuas e superfícies externas levemente encolhidas, em formato esférico. Observa-se também um leve grau de aglomeração entre as partículas menores, que tendem a aderir-se às partículas de maior diâmetro. Segundo Peleg *et al.*, (1973) a afinidade das moléculas menores pela superfície das maiores, deve-se, provavelmente, à força de atração existente entre pontes líquidas que se formaram por dissolução das camadas exteriores das partículas.

Em todas as microcápsulas produzidas com os materiais de parede utilizados (goma arábica, gelatina e maltodextrina) não se evidencia a ocorrência de fragmentação de partículas ou rachaduras na superfície externa, fator considerado benéfico, pois de acordo com Pereira (2000), a quebra de partículas pode acarretar em perdas significativas de componentes voláteis.

A distribuição e o tamanho das microcápsulas são apresentados na **FIGURA 4.2**. Para os três materiais de parede utilizados na microencapsulação por *spray drying* observa-se uma distribuição assimétrica, ou seja, não existe uma simetria em relação às partículas de tamanho médio, quer para o lado das partículas mais finas, quer para o lado das partículas de maior dimensão. O diâmetro médio das microcápsulas indica o ponto central em torno do qual gira a frequência de volume da distribuição. As partículas produzidas com goma arábica, gelatina e maltodextrina apresentaram diâmetros médios iguais a 10,63, 34,62 e 6,78 μm , respectivamente. De acordo com Fraser, Dombrowski e Routley (1963), o tamanho médio da gota atomizada está relacionado com a viscosidade do líquido. Quanto maior a viscosidade da solução de alimentação, maiores são as gotas formadas durante a atomização e, portanto, maiores as partículas de pó obtidas (KEOGH, MURRAY e O'KENNEDY, 2003).

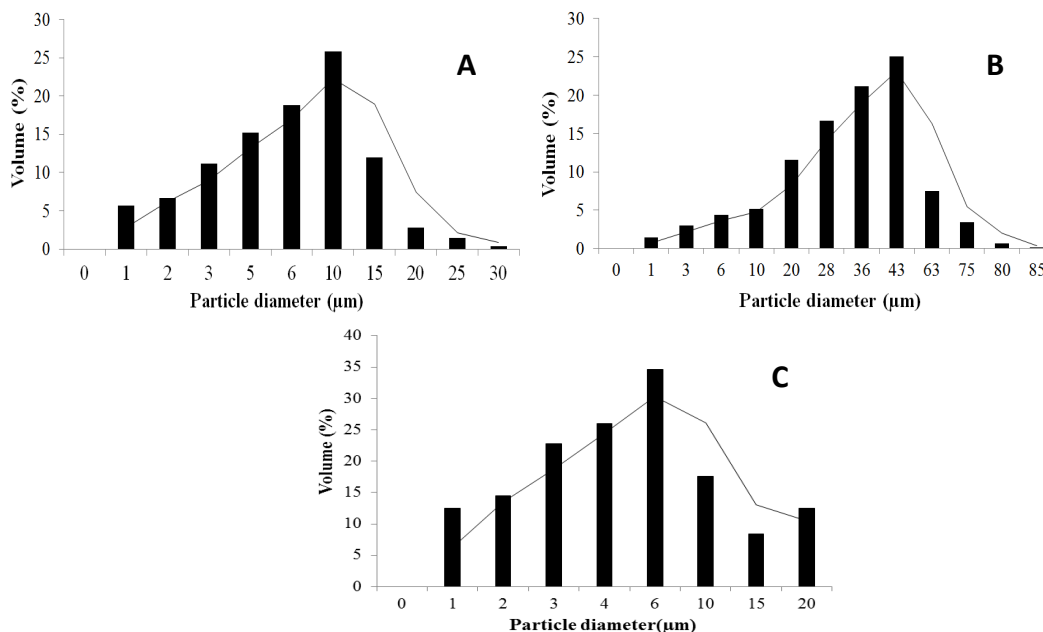


FIGURA 4.2 – Distribuição e o tamanho das microcápsulas de polpa de juçara com goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C).

3.3. Otimização da microencapsulação por *spray drying*

Na polpa de juçara *in natura*, a quantidade inicial de antocianina foi de $58,85 \pm 0,80$ mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g, correspondendo a $441,82 \pm 3,51$ mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g de matéria seca.

A eficiência de microencapsulação e a concentração de antocianina nas microcápsulas atomizadas com goma arábica, gelatina e maltodextrina, e o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) utilizado para avaliar simultaneamente os efeitos da temperatura de entrada e da relação polpa:material de parede são apresentados na **TABELA 4.4**.

A adição dos agentes encapsulantes produziu microcápsulas com menor concentração de antocianina quando comparado à polpa pura de juçara. Essa constatação era previsível, uma vez que o aumento no teor de sólidos com adição de hidrocolóides causa uma diluição do pigmento no produto final. Essa influência pode ser claramente verificada observando-se a concentração de antocianinas das microcápsulas produzidas nas mesmas condições de temperatura de secagem com diferentes materiais de parede.

TABELA 4.4 – Teores de antocianina (mg de cianidina 3-*O*-glicosídeo/100g) nas microcápsulas de polpa de juçara atomizada com diferentes materiais de parede

DCCR		Concentração de antocianina	Eficiência de microencapsulação	Temperatura de saída
Temperatura de entrada	Polpa:material de parede			
Goma arábica				
147	87,7: 12,3	43,95 ± 1,51	75,59 ± 1,68	93 ± 2
183	87,7: 12,3	40,16 ± 1,76	69,07 ± 1,83	110 ± 3
147	52,3:47,7	42,17 ± 1,34	72,52 ± 1,41	95 ± 2
183	52,3:47,7	40,05 ± 1, 22	68,88 ± 1,30	115 ± 2
140	70:30	42,96 ± 1,98	73,89 ± 2,21	85 ± 2
190	70:30	37,20 ± 1,21	63,97 ± 1,45	126 ± 3
165	95:5	50,50 ± 1,84	86,85 ± 2,22	95 ± 2
165	45:55	38,06 ± 1,10	65,46 ± 1,25	104 ± 3
165	70:30	41,63 ± 1,42	71,60 ± 1,64	100 ± 2
165	70:30	41,67 ± 1,34	71,67 ± 1,48	98 ± 2
165	70:30	41,34 ± 1,39	71,10 ± 1,59	97 ± 2
Gelatina				
147	93,5:6,5	47,98 ± 1,86	82,51 ± 2,01	92 ± 2
183	93,5:6,5	43,87 ± 1,78	75,44 ± 2,02	112 ± 3
147	86,5:13,5	46,85 ± 1,54	80,58 ± 1,65	96 ± 2
183	86,5:13,5	40,34 ± 0,91	69,39 ± 1,12	117 ± 3
140	90:10	45,24 ± 1,45	77,81 ± 2,03	84 ± 2
190	90:10	38,95± 1,79	66,98 ± 2,15	125 ± 3
165	95:5	50,96 ± 2,02	87,64 ± 2,42	98 ± 2
165	85:15	40,56 ± 1,01	69,75 ± 1,11	103 ± 3
165	90:10	44,11 ± 0,98	75,86 ± 1,24	102 ± 2
165	90:10	44,91 ± 1,01	77,24 ± 1,16	99 ± 2
165	90:10	44,91 ± 1,06	77,37 ± 1,47	100 ± 3
Maltodextrina				
147	87,7: 12,3	45,41 ± 1,12	78,09 ± 1,33	94 ± 3
183	87,7: 12,3	39,90 ± 1,76	68,62 ± 1,95	111 ± 3
147	52,3:47,7	44,32 ± 1,87	76,22 ± 2,12	96 ± 2
183	52,3:47,7	39,92 ± 1,32	68,66 ± 1,37	114 ± 2
140	70:30	43,59 ± 1,55	74,97 ± 1,81	86 ± 2
190	70:30	37,91 ± 1,23	65,20 ± 1,65	125 ± 3
165	95:5	48,33 ± 1,89	83,13 ± 2,11	94 ± 2
165	45:55	38,67 ± 1,01	66,50 ± 1,38	103 ± 2
165	70:30	42,36 ± 1,26	72,85 ± 1,83	102 ± 2
165	70:30	42,00 ± 1,24	72,24 ± 1,66	99 ± 2
165	70:30	42,05 ± 1,31	71,82 ± 1,74	101 ± 2

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. (°C) (g/g) (%)

A retenção de antocianina da polpa de juçara microencapsulada com goma arábica apresentou a faixa ótima de concentração no intervalo de temperatura de entrada no *spray dryer* entre 147 e 165°C em um percentual de polpa em torno de 87,7 a 95%. Nas microcápsulas de gelatina, a concentração de antocianina também foi maior usando proporção de polpa superior a 93,5% em temperaturas entre 147 e 165°C. Secando a mesma fração de polpa:material de parede (93,5:6,5) em temperatura acima de 180°C, observa-se uma redução de cerca de 9% no teor de antocianina da microcápsula atomizada com gelatina.

Tendência similar foi observada nas microcápsulas produzidas com maltodextrina, onde a maior eficiência de microencapsulação foi alcançada quando a polpa de juçara foi atomizada com 5% de material de parede em temperatura de 165°C. Ferrari, Ribeiro e Aguirre (2012) estudaram a influência da temperatura do ar de secagem (160 ou 180°C) e da concentração de maltodextrina (5, 15 ou 25%) sobre a retenção de antocianina em suco de amora-preta em pó, produzido por *spray drying*. Os autores relataram que a eficiência de microencapsulação foi cerca de 80% apenas para as amostras produzidas com 5% de maltodextrina e temperatura de secagem de 160°C, mostrando o efeito sinérgico dessas duas variáveis na manutenção do teor de antocianinas da amora-preta.

Os resultados da **TABELA 4.4** mostram que a adição de maior concentração de material encapsulante causa um efeito de diluição do pigmento antociânico, por consequência do aumento no teor de sólidos da solução de alimentação, havendo perda de nutrientes e da cor do produto, o que diminui a qualidade dos pós produzidos. No entanto, cabe ressaltar que maior é a influência da temperatura do ar de secagem sobre o material atomizado. Por exemplo, quando se compara microcápsulas de maltodextrina na proporção de 87,7:12,3 (polpa:material de parede) produzidos nas temperaturas de 147 e 183°C, observa-se que o aumento da temperatura levou às maiores perdas de antocianinas, o que se deve à alta sensibilidade deste pigmento em temperaturas muito elevadas (CAI e CORKE, 2000). É possível verificar esse comportamento para todos os materiais de parede utilizados.

O processo de secagem em *spray dryer* expõe o produto por pouco tempo a uma alta temperatura e acarreta, assim, uma perda reduzida de compostos termossensíveis. No entanto, a temperatura de saída do produto é um fator importante a ser considerado na retenção destes compostos. Pode se observar na **TABELA 4.4** que a temperatura de saída aumentou com o aumento da temperatura do ar de secagem, sugerindo que esta foi

provavelmente uma das causas da menor retenção de antocianinas nas maiores temperaturas. Segundo Quek, Chok e Swedlund (2007), os pós produzidos a temperaturas mais baixas apresentam uma tendência de aglomeração, em razão do maior teor de umidade. A aglomeração faz com que as partículas apresentem menor superfície exposta, diminuindo a exposição dos pós ao oxigênio e protegendo os pigmentos contra a degradação. Os autores verificaram uma redução de 30% no teor de licopeno em suco de melancia em pó obtido por *spray drying*, ao se aumentar a temperatura de secagem de 145 para 175 °C.

Os coeficientes de regressão e os níveis de significância dos resultados das retenções de antocianinas nas microcápsulas de goma arábica, gelatina e maltodextrina são apresentados na **TABELA 4.5** e serviram de base na elaboração dos modelos matemáticos em função das duas variáveis estudadas.

TABELA 4.5 – Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo polinomial quadrático e significância (*p*-valor) para a retenção de antocianinas em polpa de juçara microencapsulada com goma arábica, gelatina e maltodextrina

	Coeficientes						
	β_0	β_1	β_{11}	β_2	β_{22}	β_{12}	<i>p</i> -valor
Goma arábica	15,52	$-17,96 \text{ e}^{-2}$	$54,18 \text{ e}^{-5}$	$-36,71 \text{ e}^{-3}$	$59,01 \text{ e}^{-5}$	ns	< 0,05
Gelatina	17,65	$-19,13 \text{ e}^{-2}$	$57,51 \text{ e}^{-5}$	$-32,94 \text{ e}^{-2}$	$16,12 \text{ e}^{-3}$	ns	< 0,05
Maltodextrina	16,44	$-19,04 \text{ e}^{-2}$	$57,32 \text{ e}^{-5}$	$-37,99 \text{ e}^{-3}$	$61,58 \text{ e}^{-5}$	ns	< 0,05

ns = não significante ($p > 0.05$)

Nos limites do experimento, as equações da **TABELA 4.6** representam os modelos experimentais da retenção de antocianina em função da temperatura do ar de entrada e da proporção polpa:material de parede, para microcápsulas de juçara produzidas por *spray dryer*. As equações estão em função das variáveis estudadas, temperatura de entrada no *spray dryer* (X_1) e quantidade de polpa de juçara (X_2), sendo R^2 o coeficiente de determinação destas. Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) de cada equação gerada variaram de 0,91 a 0,96. Estes resultados demonstram que o modelo quadrático seria adequado para descrever as condições experimentais na microencapsulação da polpa de juçara. Para verificar o quanto o modelo matemático calculado representa os dados experimentais, foi conduzida análise de variância (ANOVA). As razões entre o quadrado médio da regressão pelo quadrado médio do

resíduo $F_{cal} = (QM_{regressão}/QM_{resíduo})$, variaram de 18,80 a 32,45 para as equações dos modelos matemáticos. Todos os valores de F calculados (F_{cal}) foram superiores aos de F tabelados (F_{tab}), indicando equações de regressão significativas, ou a validade do modelo experimental.

TABELA 4.6 – Equações que representam a resposta em função da temperatura de entrada no *spray dryer* (X_1) e da quantidade de polpa de juçara (X_2) nas microcápsulas de goma arábica, gelatina e maltodextrina

Equação Y = (média) (valores X_1 e X_2 codificados)	R^2	F_{cal}	F_{tab}
Goma arábica			
$Y = 15,52 - 17,96 e^{-2} X_1 + 54,18 e^{-5} X_1^2 - 36,71 e^{-3} X_2 + 59,01 e^{-5} X_2^2$	0,91	18,80	4,39
Gelatina			
$Y = 17,65 - 19,13 e^{-2} X_1 + 57,51 e^{-5} X_1^2 - 32,94 e^{-2} X_2 + 16,12 e^{-3} X_2^2$	0,96	32,45	4,39
Maltodextrina			
$Y = 16,44 - 19,04 e^{-2} X_1 + 57,32 e^{-5} X_1^2 - 37,99 e^{-3} X_2 + 61,58 e^{-5} X_2^2$	0,96	21,67	4,39

Uma vez que os modelos propostos são válidos, as equações de regressão permitem prever o efeito dos dois parâmetros estudados sobre a retenção de antocianinas nas microcápsulas de juçara. A relação entre as variáveis independentes e a dependente é representada tridimensionalmente pela superfície de resposta gerada pelos modelos para a concentração de antocianinas presente em cada amostra, conforme a **FIGURA 4.3**. Constatou-se através da análise de superfície de resposta que as faixas ótimas de concentração de antocianinas nas microcápsulas de juçara para todos os materiais de parede utilizados (goma arábica, gelatina e maltodextrina) foram: temperatura de ar de entrada entre 147 e 165°C e porcentagem de polpa de juçara entre 93,5 e 95%.

A adição de diferentes materiais de parede resultou em microcápsulas de juçara com distintas características químicas e físicas. A polpa microencapsulada produzida por *spray dryer* pode apresentar melhores propriedades tecnológicas, como menor higroscopicidade e maior solubilidade, aliado às propriedades funcionais, nutricionais e dietéticas, quando comparada à polpa fresca ou sem adição de encapsulante. Nesse sentido, o próximo passo desse estudo é avaliar a influência das variáveis de processo na qualidade do produto final que apresentou a melhor eficiência de encapsulação do

pigmento antociânico (temperatura de ar de entrada: 165°C e proporção de polpa: material de parede, 95:5).

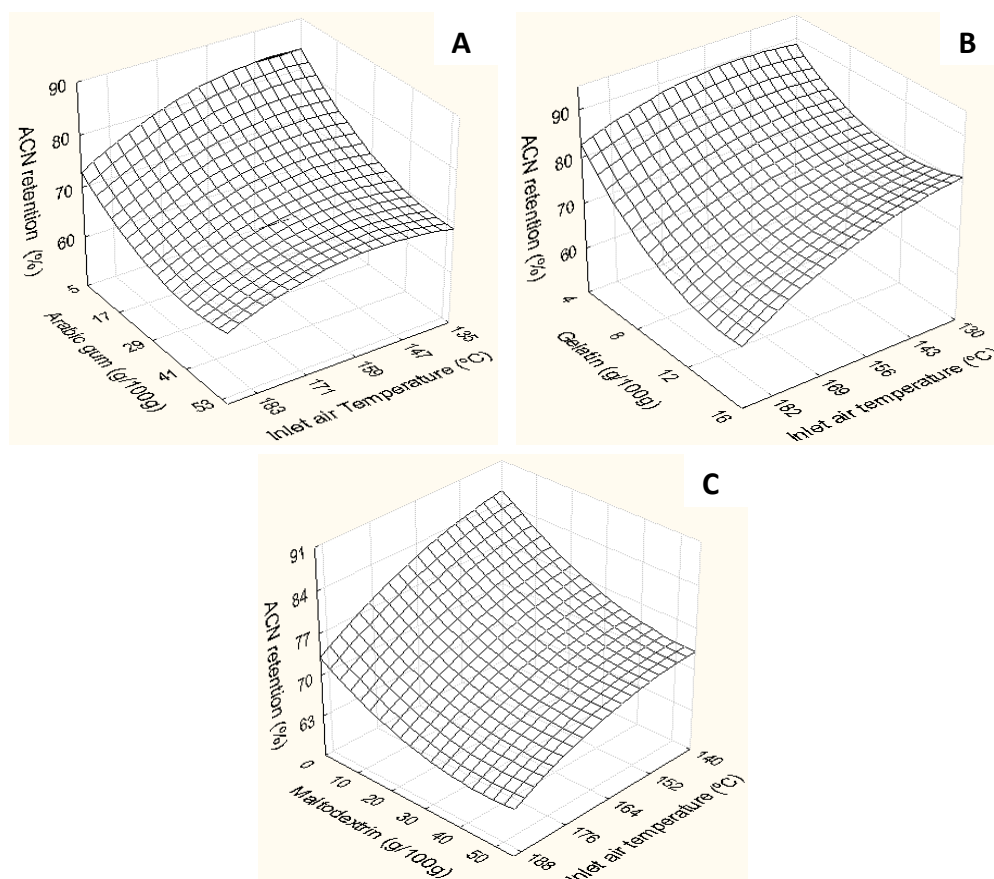


FIGURA 4.3 – Superfícies de resposta na retenção de antocianinas em polpa de juçara microencapsulada por *spray drying*, usando goma arábica (A), gelatina (B) e maltodextrina (C)

3.4. Propriedades tecnológicas da microcápsula produzida nas condições otimizadas de processo

A secagem em *spray dryer* envolve quatro etapas: atomização do líquido, contato do líquido atomizado com o ar quente, evaporação da água e separação do produto em pó do ar de secagem (GAVA, SILVA e FRIAS, 2008), sendo que todas elas interferem nas características finais do pó. O tamanho da partícula sólida, sua

densidade, aparência e umidade são influenciados pelas condições do processo de secagem e pelas propriedades da solução atomizada (Dziezak, 1988).

Conhecer as propriedades dos alimentos é fundamental para aprimorar o processamento e sua funcionalidade, além de reduzir os custos dos ingredientes em pó produzidos ou utilizados na indústria farmacêutica e alimentícia. Propriedades como umidade, atividade de água e higroscopicidade são essenciais para a estabilidade e o armazenamento dos pós, enquanto a solubilidade está diretamente relacionada à sua reconstituição. O conhecimento da densidade é essencial em processos industriais, no ajuste das condições de processamento, embalagem, estocagem e distribuição. A **TABELA 4.7** apresenta os resultados para as propriedades tecnológicas das microcápsulas de juçara produzidas com goma arábica, gelatina e maltodextrina.

TABELA 4.7 – Propriedades tecnológicas das microcápsulas de juçara com goma arábica, gelatina e maltodextrina, produzidas nas condições otimizadas de processo

Propriedades	Material de parede		
	Goma arábica	Gelatina	Maltodextrina
Umidade (g/100g)	7,23 ± 0,07 ^B	4,94 ± 0,09 ^C	10,17 ± 0,04 ^A
Higroscopicidade (g/100g)	14,65 ± 0,11 ^A	10,97 ± 0,14 ^C	12,26 ± 0,14 ^B
Atividade de água	0,42 ± 0,11 ^B	0,44 ± 0,02 ^A	0,40 ± 0,01 ^C
Densidade (g/ml)	0,37 ± 0,01 ^A	0,20 ± 0,01 ^C	0,24 ± 0,03 ^B
Solubilidade (g/100g)	93,18 ± 0,31 ^A	86,27 ± 0,27 ^B	93,68 ± 0,42 ^A
Parâmetros de cor			
L*	20,11 ± 0,20 ^C	25,54 ± 0,09 ^A	22,11 ± 0,14 ^B
a*	16,48 ± 0,02 ^B	8,50 ± 0,22 ^C	17,46 ± 0,18 ^A
b*	-1,58 ± 0,14 ^A	-2,34 ± 0,14 ^B	-1,23 ± 0,18 ^A
Croma (C*)	16,55 ± 0,03 ^B	8,82 ± 0,21 ^C	17,50 ± 0,17 ^A
Hue (H°)	-0,10 ± 0,00 ^A	-0,27 ± 0,02 ^B	-0,07 ± 0,01 ^A

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições. ^{A-C} Letras sobrescritas diferentes na mesma linha denotam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

É possível observar que a umidade das diferentes microcápsulas produzidas sob mesma temperatura de secagem apresentou diferença significativa entre si ($p < 0,05$). O maior teor de umidade foi encontrado nas microcápsulas com maltodextrina, seguida

por goma arábica e gelatina. De acordo com a **TABELA 4.7**, a microcápsula produzida com gelatina foi menos higroscópica ($p<0,05$) que a produzida com maltodextrina, que por sua vez, foi menos higroscópica ($p<0,05$) que a produzida com goma arábica. Essa diferença na adsorção de água pode ser explicada pela estrutura química de cada agente encapsulante.

No caso das proteínas, o padrão de distribuição dos segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos na superfície, assim como a rigidez estrutural da molécula, causam limitações à adsorção (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). A higroscopicidade das microcápsulas com maltodextrina sugerem que o agente encapsulante apresenta uma proporção suficiente de cadeias poliméricas longas que inibem a adsorção de água (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). A goma arábica, por sua vez, apresenta um grande número de ramificações com grupos hidrofílicos em sua estrutura (BE MILLER e WHISTLER, 1996), o que pode ser responsável pela adsorção de água do ambiente.

As microcápsulas produzidas com os diferentes agentes encapsulantes apresentaram valores de atividade de água (A_w) inferiores a 0,45. Esse reduzido valor de atividade água indica uma baixa disponibilidade de água para reações químicas e crescimento microbiano, o que é favorável para estabilidade de produtos desidratados (QUEK, CHOK e SWEDLUND, 2007).

A maior densidade aparente foi da amostra produzida com goma arábica (0,37 g/mL), seguida pela amostra com maltodextrina (0,24 g/mL) e gelatina (0,20 g/mL). Quanto mais pesado o material, mais facilmente este se acomoda nos espaços entre as partículas, ocupa volumes menores resultando em maiores densidades. Além disso, as interações poliméricas entre os diferentes agentes encapsulantes e a polpa de juçara podem ter resultado em maiores ou menores espaços ocupados, o que representa em menores ou maiores densidades, respectivamente. Segundo Cai e Corke (2000), a densidade aparente das microcápsulas obtidas por *spray dryer* diminui com o aumento da temperatura de secagem e vazão mássica de alimentação. O aumento da taxa de secagem obtida com altas temperaturas, provavelmente, produz um aumento na superfície de contato e, conseqüentemente, um aumento no volume, o que causa uma redução na densidade das microcápsulas obtidas por *spray dryer*.

As microcápsulas de juçara produzidas com goma arábica e maltodextrina apresentaram maior solubilidade, com diferença estatística significativa ($p<0,05$), em relação às microcápsulas com gelatina. Polissacarídeos contêm unidades glicosil que

possuem, em média, três grupos hidroxila. Cada um desses grupos tem a possibilidade de formar ligações de hidrogênio com uma ou mais moléculas de água. Como cada unidade de açúcar da cadeia tem a capacidade de reter moléculas de água, os glicanos possuem uma forte afinidade com a água e maioria se hidrata facilmente quando ela está disponível (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010). De forma semelhante aos resultados apresentados acima, Cano-Chauca *et al.* (2005) observaram valores de solubilidade superiores a 90% no suco de manga atomizado com maltodextrina e goma arábica. A alta solubilidade dos pós obtidos revela seu potencial como ingrediente em produtos alimentícios, como bebidas e preparados de sobremesas instantâneos.

Os resultados das análises dos parâmetros de cor das microcápsulas produzidas por *spray dryer* utilizando goma arábica, gelatina e maltodextrina também são apresentados na **TABELA 4.7**. Houve diferenças significativas ($p<0,05$) para a luminosidade (L^*) das microcápsulas de gelatina, em relação às microcápsulas com goma arábica e maltodextrina, sugerindo que a associação entre a cadeia polipeptídica de gelatina e a polpa de juçara favoreceu a formação de uma rede proteica translúcida, o que conferiu ao produto final um maior valor de L^* (HERMANSSOM, 1979). Microcápsulas com maltodextrina apresentaram um valor para luminosidade estatisticamente superior ($p<0,05$) ao valor das amostras atomizadas com goma arábica. A maltodextrina possui amidos nativos capazes de refletir a luz e que lhe conferem coloração branca.

O parâmetro a^* apresentou menor valor nas microcápsulas de gelatina, denotando uma diminuição da tonalidade vermelha. No caso do parâmetro b^* , menor valor foi observado para as microcápsulas de gelatina, o que mostra uma intensificação da tonalidade azul do pó microencapsulado com esse material de parede.

O croma C^* seguiu a mesma tendência dos valores do parâmetro a^* , indicando que o parâmetro a^* foi mais expressivo na determinação do croma das microcápsulas de juçara. Uma diminuição significativa do valor de C^* foi verificada apenas para as amostras produzidas com gelatina, resultando em um pó com coloração menos viva, o que pode ser atribuído à coloração do material de parede em associação com a polpa de juçara de cor roxa intensa.

O ângulo de tom H^* apresentou uma diminuição estatisticamente significativa nas microcápsulas com gelatina quando comparado às microcápsulas com goma arábica e maltodextrina, mostrando uma tonalidade mais roxa dos pós, por causa da redução da

intensidade da cor vermelha (menores valores de a^*) e do aumento da intensidade da cor azul (menor valor de b^*).

3.5. Cinética da degradação das antocianinas

Os parâmetros cinéticos da degradação das antocianinas na polpa microencapsulada de juçara com goma arábica, gelatina e maltodextrina são apresentados na **TABELA 4.8**.

TABELA 4.8 – Parâmetros cinéticos da degradação de antocianinas das microcápsulas de juçara durante estocagem a 40°C e umidade relativa de 75% por 30 dias

Microcápsulas	Constante de velocidade de reação (dia^{-1})	Tempo de meia vida ($t_{1/2}$) (dias)	Coefficiente de correlação (R^2)
Goma Arábica	0,049	14	0,97
Gelatina	0,078	9	0,99
Maltodextrina	0,062	11	0,98

De acordo com o estudo de estabilidade acelerada – estocagem a 40°C e umidade relativa de 75% por 30 dias – a maior taxa de degradação (dia^{-1}) foi encontrada nas microcápsulas com gelatina, seguida pela maltodextrina e goma arábica, com tempos de meia vida variando de 9 a 14 dias. A microcápsula de goma arábica apresentou a menor taxa de degradação e o maior tempo de meia vida.

As maiores taxas de degradação nas microcápsulas de juçara podem ser atribuídas ao material não encapsulado, que fica em contato com o oxigênio por maior tempo, ou até mesmo ao material em contato com o oxigênio presente no interior dos poros. Além disso, a maior absorção de água no início da estocagem também pode ser responsável pela maior taxa de degradação, uma vez que maior teor de água implica em maior mobilidade molecular. Vale ressaltar que as microcápsulas de gelatina apresentaram a maior atividade de água (**TABELA 4.7**), o que aumenta a mobilidade molecular e facilita as reações físico-químicas de degradação.

4. CONCLUSÃO

As condições otimizadas para produção de microcápsulas de juçara com alto teor de antocianinas e utilizando goma arábica, gelatina e maltodextrina como materiais de parede foram: temperatura do ar de entrada de 165°C e proporção (% g/g) polpa:material de parede de 95:5. A microencapsulação com gelatina conferiu a maior eficiência de microencapsulamento para a polpa de juçara em pó, no entanto, durante o estudo de estabilidade acelerada (40°C e umidade relativa de 75% por 30 dias), as microcápsulas com gelatina mostraram a maior velocidade de degradação e consequentemente o menor tempo de meia vida. Mesmo considerando as perdas iniciais inerentes ao tratamento térmico no processo de secagem por *spray drying*, a goma arábica foi o segundo material de parede com maior eficiência de microencapsulação da polpa de juçara e promoveu maior estabilidade durante a estocagem. Devido ao alto teor de antocianinas, as microcápsulas de juçara podem ser consideradas um antioxidante natural, com possibilidades de substituição total ou parcial de antioxidantes sintéticos no desenvolvimento de novos produtos.

CONCLUSÕES FINAIS

Os dados deste estudo demonstram que o teor de compostos fenólicos totais diminui, enquanto o conteúdo de antocianinas totais e a atividade antioxidante dos extratos de frutos de juçara aumentam durante o amadurecimento destes frutos.

O conteúdo de ácidos fenólicos totais também decresce durante o amadurecimento dos frutos. Cerca de 50% dos ácidos fenólicos em frutos de juçara são solúveis, e apresentam maior atividade antioxidante que a fração de ácidos insolúveis. A maior atividade antioxidante apresentada pela fração solúvel pode ser atribuída à presença de antocianinas.

O estudo revelou que frutos de juçara são ricos em compostos fenólicos e apresenta alta atividade antioxidante. Além disso, os resultados dessas análises podem auxiliar na determinação do ponto ótimo de colheita e na escolha das tecnologias mais apropriadas para a colheita e o processamento dos frutos.

As condições ótimas de temperatura e a proporção de polpa e material de parede para obter uma maior retenção de antocianinas na microencapsulação por *spray dryer* de polpa de juçara são 5% de material de parede a temperatura de 165°C. A melhor eficiência de microencapsulação foi obtida utilizando gelatina (~88%) como material de parede, seguida pela goma arábica (~87%) e maltodextrina (~83%).

No estudo de estabilidade acelerada, a goma arábica ofereceu maior proteção ao pigmento antocianico ($t_{1/2} = 14$ dias), enquanto a gelatina favoreceu a degradação de antocianinas ($t_{1/2} = 9$ dias).

Acredita-se que com a demonstração de que os frutos de juçara apresentam altos teores de compostos bioativos e alta atividade antioxidante, haverá um estímulo para uma utilização mais ampla destes frutos pela indústria de alimentos e pela população em geral como fonte de fitoquímicos bioativos promotores da saúde humana.

REFERÊNCIAS

ABDEL-AAL, El-S.M.; YOUNG, J.C.; RABALSKI, I.; Anthocyanin composition in black, bleu, pink, purple, and red cereal grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.13, p.4696–4704, 2006.

ADAM, A.; CRESPIY, V.; LEVRAT-VERNY, M.A.; LEENHARDT, F.; LEUILLET, M.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver rats. **The Journal of Nutrition**, v.132, n.7, p.1962–1968, 2002.

AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v.22, n.2, p.239–244, 2011.

AHN, J.H.; KIM, Y.P.; LEE, Y.M.; SEO, E.M.; LEE, K.W.; KIM, H.S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v.107, n.1, p.98–105, 2008.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R.L.; HUBINGER, M.D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v.24, n.1, p.114–119, 2004.

ALWAN, A.H.; MAHMOUD, M.J.; NAJI, A.; HUSSEIN, W.A. Antimutagenic activities of phenolic plant flavonoids. **Journal of Food Safety**, v.9, n.3, p.193 – 200, 1988.

AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY – AOCS. **Official methods and recommended practices**. Boulder, 2003.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n.5, p.240–251, 2007.

ANDERSEN, O.M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: Andersen OM, Markham KR **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton: CRC Press; 2006.

ANTON, A.A.; ROSS, K.A.; BETA, T.; FULCHER, R.G.; ARNTFIELD, S.D Effect of pre-dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v.41, n.5, p.771–778, 2008.

ARCHERI, D.P.R. Estudo das características de adsorção de água e da estabilidade das microcápsulas de óleo essencial de laranja na seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.3, p.367–373, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis**, 17th ed., 2nd rev.; AOAC International: Gaithersburg, MD, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis**, 18th ed., 2nd rev.; AOAC International: Gaithersburg, MD, 2005.

BE MILLER, J.N.; WHISTLER, R.L. **Carbohydrates**. In: FENNEMA, O.R. Food Chemistry. New York: Marcel Dekker, 3.ed., p.157-224, 1996.

BECKMAN, C.H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants?. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.57, n.3, p.101–110, 2000.

BENNETT, L.L.; ROJAS, S.; SEEFELDT, T. Role of Antioxidants in the Prevention of Cancer. **Journal of Experimental & Clinical Medicine**, v.4, n.4, p.215–222, 2012.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, n.1, p.70–76, 1996.

BERTOLINI, A.C.; SIANI, A.C.; GROSSO, C.R.F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by *spray-drying*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, n.2, p.780–785, 2001.

BHANDARI, B. H. Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, v.57, n.1, p.217–221, 1992.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123–130, 1999.

BOBBIO, F.O.; DRUZIAN, J.I.; ABRÃO, P.A.; BOBBIO, P.A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.3, p.388–390, 2000.

BOBBIO, F.O.; MERCADANTE, A.Z. Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties. In: Socaciu, C. (Ed.): **Food Colorants: Chemical and Functional Properties**, CRC Press: Boca Raton, 2008.

BORGES, G.S.C. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de frutos de jussara (*Euterpe edulis*)**. 121p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BORGES, G.S.C.; GONZAGA, L.V.; JARDINI, F.A.; FILHO, J.M.; HELLER, M.; MICKE, G.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, n.1, p.363–369, 2013.

BORGES, G.S.C.; VIEIRA, F.G.K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L.V.; ZAMBIAZI, R.C.; FILHO, J.M.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.2128–2133, 2011.

BOURNE, L.C.; RICE-EVANS, C. Bioavailability of ferulic acid. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.253, n.3, p.222–227, 1998.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science & Technology**, v.28, n.1, p.25–30, 1995.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 1 – **Realização de Estudos de Estabilidade**, 2005. Disponível em: <<http://www.ibrafin.org.br/admin/UPLarquivos/221220081040112.pdf>>. Acesso em 10/outubro/2011

BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução normativa nº 6–**Espécies da flora brasileira ameaçada de extinção**, 2008. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/especies-ameaçadas-de-extincao/flora-ameaçada>>. Acesso em 20/junho/2012

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí**. On-line. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/2798.htm>. Acesso em: 20/maio/2012.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition reviews**, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BRITO, E.S.; ARAÚJO, M.C.P.; ALVEZ, R.E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B.A.; NOVOTNY, J.A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jabolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9389–9394, 2007.

BROOKS, J.S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, n.9, p.769–782, 2004.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: **Anthocyanins as Food Colors**. Markakis, P (ed), New York: Academic Press, 1982.

BUCHANAN, C.J.; WALLACE, G.; FRY, S.C. In vivo release of ^{14}C -labeled phenolic groups from intact dietary spinach cell walls during passage through the rat intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.71, n.4, p.459–469, 1996.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v.74, n.17, p.2157–2184, 2004.

CAI, Y.Z.; CORKE, H. Production and properties of *spray dried Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v.65, n.6, p.1248–1252, 2000.

CALÒ, A.; TOMASI, D.; CRAVERO, M.C.; DI STEFANO, R. Contributo ala caratterizzazione e classificazione varietale (*Vitis* sp), attraverso la determinazione degli antociani e degli acidi idrossicinnamoi tartarici della buccia di varietà a bacca rossa. **Annali dell'Istituto Sperimentale per L'Enologia Asti**, v.25, n.1054, p.47–61, 1994.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P.C.; RAMOS, A.M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by *spray drying* and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.4, p.420–428, 2005.

CANTO, S.A.E. **Processo Extrativista do Açaí: Contribuição da Ergonomia com Base na Análise Postural Durante a Coleta dos Frutos**. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

CAO, G.; PRIOR, R.L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**, v.44, n.6, p.1309–1315, 1998.

CAO, G.H.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v.14, n.3, p.303–311, 1993.

CARDOSO, C.L.; SILVA, D.H.S.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S. New bioflavonoid and other flavonoids from the leaves of *Chimarrhis turbinata* and their

antioxidant activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.16, n.6B, p.1353–1359, 2005.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003.

CASTAÑEDA-OVANDO, A; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.E.; RODRÍGUEZ, J.A.; GALÁN-VIDAL, C.A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.859–871, 2009.

CASTREJÓN, A.D.R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L.W.; HUYSKENS-KEIL S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, v.109, n.3, p.564–572, 2008.

CASTRO, E.R. **Fenologia reprodutiva do palmito *Euterpe edulis* (Arecaceae) e sua influência na abundância de aves frugívoras na Floresta Atlântica**. 183p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2007.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas Comestíveis da Amazônia**. 5.ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991.

CHAIMSOHN, P.F.; CHIQUETTO, N.C.; FLIZIKOWSKIL, G.; DURIGAN, M.E.; GOMES, E.P.; MACHADO, N.C.; MILLÉO, R.D.S.; TREITNY, M.R.; CUNHA, K.M.; JORGE, R.D. Produção de polpa de frutos de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) no litoral do PR: Projeto de pesquisa e desenvolvimento. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.974–976, 2009.

CHAVEZ-SANTOSCOY, R.A.; GUTIERREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDÍVAR, S.O. Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.64, n.2, p.146–152, 2009.

CHRONAKIS, I.S. On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: **A Review. Critical Reviews in Food Science**, v.38, n.7, p.599–637, 1998.

CINQUANTA, L.; DI MATTEO, M.; ESTI, M. Physical pre-treatment of plums (*Prunus domestica*). Part 2: Effect on the quality characteristics of different prune cultivars. **Food Chemistry**, v.79, n.2, p.233–238, 2002.

CLIFFORD M.N.; BROWN J.E. Dietary flavonoids and health - broadening the perspective. In: Andersen O.M., Markham K.R., editors. (eds), **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006.

CLIFFORD, M.N. Review: Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.7, p.1063–1072, 2000.

COHEN, K.O.; ALVES, S.M. **Sistema de Produção do Açaí**. In: Sistemas de Produção, v.4. Açaí. Embrapa Amazônia Oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/intro.htm>. Acesso em 15/maio/2012.

COLLINS-BUROW, B.M.; BUROW, M.E.; DUONG, B.N.; MCLACHLAN, J.A. Estrogenic and antiestrogenic activities of flavonoid phytochemicals through estrogen receptor binding-dependent and -independent mechanisms. **Nutrition and Cancer**, v.38, n.2, p.229–244, 2000.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, n.2, p.66–76, 1996.

CRESPO, P.; BORDONABA, J.G.; TERRY, L.A., CARLEN, C. Characterization of major taste and health related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. **Food Chemistry**, v.122, n.1, p.16–24, 2010.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Phenols, polyphenols and tannins: an overview. In: CROZIER, A.; CLIFFORD, M. N.; ASHIHARA, H. **Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2006. p.1–24.

CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. **Journal of Mass Spectrometry**, v.39, n.1, p.1–15, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C.H.; TALCOTT, S.T. Phytochemical composition and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.5, p.1539–1545, 2004.

DEL POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S.S.; TALCOTT, S.T. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.4, p.1222–1229, 2006.

DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LOPEZ, O. **Natural colorants for food and nutraceutical uses**. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 326, 2003.

DEMBITSKY, V.M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolites **Food Research International**, v.44, n.7, p.1671–1701, 2011.

DERGAL, S. B. **Química de los alimentos**. 3ed. Nancalpon de Juárez: Longman de México, 1993.

DESOBRY, S.A.; NETTO, F.M.; LABUZA, T.P. Influence of maltodextrin systems at an equivalent 25DE on encapsulated β -carotene loss during storage. **Journal of Food Processing Preservation**, v.23, n.1, p.39–55, 1999.

DIB TAXI, C.M.A.; DE MENEZES, H.C.; SANTOS, A.B.; GROSSO, C.R.F. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. **Journal Microencapsulation**, v.20, n.4, p.443–448, 2003.

DICKANCAITE, E.; NEMEIKAITĖ, A.; KALVELYTE, A.; CENAS, N. Prooxidant character of flavonoid cytotoxicity: structure-activity relationships. **Biochemistry of Molecular Biology International**, v.45, n.5, p.923–930, 1998.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v.17, n.1, p.25–39, 2003.

DISILVESTRO, R.A. Flavonoids as antioxidants. In: Widman REC, editores. **Handbook of nutraceuticals and functional foods**. Boca Raton: CRC Press LLC; 2001.

DIXON, R.A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C.J.; REDDY, M.S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defense – a genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v.3, n.5, p.371–390, 2002.

DRUSCH, S. Sugar beet pectin: a novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by *spray drying*. **Food Hydrocolloids**, v.21, n.7, p.1223–1228, 2007.

DRUSCH, S.; SCHWARZ, K. Microencapsulation properties of two different types of noctenylsuccinate-derivatised starch. **European Food Research and Technology**, v.222, n.1-2, p.155–164, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e

método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v.26, n.2, p.446–452, 2006.

DZIEZAK, J.D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v.42, n.4, p.136–148, 1988.

EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisas de Florestas. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado de Santa Catarina**. Infoteca: Curitiba, 1988.

ERSUS, S.; YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by *spray dryer*. **Journal of Food Engineering**, v.80, n.3, p.805–812, 2007.

FALCÃO, L.D.; CHAVES, E.S.; BURIN, V.M.; FALCÃO, A.P.; GRIS, E.F.; BONIN, V.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Maturity of cabernet sauvignon berries from grapevines grown with two different training systems in a new grape growing region in Brazil. **Ciencia e Investigación Agraria**, v.35, n.3, p.271–282, 2008.

FAULDS, C.B.; WILLIAMSON, G. The role of hydroxycinnamates in the plant cell wall. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, n.3, p.393–395, 1999.

FELZENSZWALB, I.; MARQUES, M.R.C.; MAZZEI, J.L.; AIUB, C.A.F. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v.58, 536–544, 2013.

FERRARI, C.C.; RIBEIRO, C.P.; AGUIRRE, J.M. *Spray drying* of blackberry pulp using maltodextrin as carrier agent. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n.2, p.157–165, 2012.

FIANDER, H.; SCHNEIDER, H. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and incresase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer chemopreventives that act by two mechanisms: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotcs. **Cancer Letters**, v.156, n.2, p.117–124, 2000.

FISCH, S.; NOGUEIRA, L.R.; MANTONAVI, W. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. na Mata Atlântica (reserva ecológica do Trabiju, Pindamonhangaba- SP). **Revista de Biociências**, v.6, n.2, p.31–37, 2000.

FISCHER, K. Neues Verfahren zur maßanalytischen Bestimmung des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern. **Angewandte Chemie**, v.48, n.26, p.394–396, 1935.

FRANCIS, F.J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.28, n.4, p.273–314, 1989.

FRASER, R.P.; DOMBROWSKI, N.; ROUOUTLEY, J.H. The atomization of a liquid sheet by an impinging air stream. **Chemical Engineering Science**, v.18, n.6, p.339–353, 1963.

GALLORI, S.; BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; BARBOSA, W.L.R.; VINCIERI, F.F. Polyphenolic Constituents of Fruit Pulp of *Euterpe oleraceae* Mart. (Açaí). **Cromatographia**, v.59, n.11-12, p.739–743, 2004.

GARBIN, V.P. **Análise da atividade antimicrobiana dos extratos dos frutos, óleos das sementes e fungos isolados da palmeira juçara (*Euterpe edulis* Martius 1824)**. 86p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia), Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

GASIOROWSKI, K.; SZYBA, K.; BROKOSA, B.; KOLACZYLSKA, B.; JANKOWIAK-WLODARCZYK, M.; OSZMIAFISKI, J. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. **Cancer Letters**, v.119, n.1, p.37–46, 1997.

GAVA, A.J.; SILVA, C.A.B.; FRIAS, J.R.G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GAWLIK-DZIKIA, U.; JEŻYNAB, M.; ŚWIECAA, M.; DZIKIC, D.; BARANIAKA, B.; CZYŻB, J. Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on in vitro anticancer activity of broccoli sprouts. **Food Research International**, v.49, n.1, p.469–476, 2012.

GHARRAS, H.E. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v.44, n.12, p.2512–2518, 2009.

GIBBS, B.F. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal Food Science and Nutrition**, v. 50, n.3, p.213–224, 1999.

GIORGI, M.; CAPOCASA, F.; SCALZO, J.; MURRI, G.; BATTINO, M.; MEZZETTI, B. The rootstock effect on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. ‘Suncrest’). **Scientia Horticulturae**, v.107, n.1, p.36–42, 2005.

GLICKSMAN, M. **Food Hydrocolloids**. v.II, 2.ed., Boca Raton: CRC Press, p.7–29, 1989.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374–381, 2007.

GORDON, A., CRUZ, A. P. G., CABRAL, L. M. C., FREITAS, S. C., TAXI, C. M. A. D., DONANGELO, C. M., MATTIETTO, R. A., FRIEDRICH, M., MATTA, V. M., MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v.133, n.2, p.256–263, 2012.

GRUZ, J.; AYAZ, F.A.; TORUN, H.; STRNAD, M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. **Food Chemistry**, v.124, n.1, p.271–277, 2011.

HARBORNE, J.B. Flavonoids and the evolution of the angiosperms. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.5, n.1, p.7–22, 1977.

HARBORNE, J.B.; SAITO, N.; DETONI, C.H. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and *Pinanga*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.22, n.8, p.835–836, 1994.

HAUG, I.J.; DRAGET, K.I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.18, n.2, p.203–213, 2004.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Eds.) *Euterpe edulis* Martius – (Palmitero) **biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000.

HENDERSON, A.; GALEANO, G. *Euterpe, Prestoea, and Neonicholsonia* (Palmae: *Euterpeinae*). New York: New York Botanical Garden, 1996. 90p. (Flora Neotropica, 72)

HEO, H.J.; KIM, Y.J.; CHUNG, D.; KIM, D. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. **Food Chemistry**, v.104, n. 1, p.87–92, 2007.

HERMANSSOM, A.M. Aggregation and denaturation involved in gel formation. In: SHERMAN, P. **Food texture and rheology**. New York: Academic Press, 1979.

HERNÁNDEZ, F.; MELGAREJO, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ARTÉS, F. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum* L.) clones. **European Food Research Technology**, v.210, p.39–42, 1999.

HERRMANN, K.M.; WEAVER, L.M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.473–503, 1999.

HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PASCUAL-TERESA, S. Flavonoid: flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.121, n.3, p.691–696, 2010.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, v.118, n.2, p.208–214, 2010.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.; PRIOR, R.L. High-throughput assay for oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.16, p.4437–4444, 2002.

HUANG, D.; OU, B.; HMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.; DEEMER, E.K. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β -cyclodextrin as the solubility enhancer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.7, p.1815–1821, 2002.

HUANG, D.J.; OU, B.X.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.6, p.1841–1856, 2005.

HUKKANEN, A.T.; POLONEN, S.S.; KARENLAMPI, S.O.; KOKKO, H.I. Antioxidant capacity of phenolic content of sweet rowanberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.1, p.112–119, 2006.

IADEROZA, M.; BALDINI, V.L.S.; DRAETTA, S.E.; BOVI, M.L.A. Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea* Mart) and juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Tropical Science**, v.32, p.41–46, 1992.

INDAP, M.A.; RADHIKA, S.; MOTIWALE, L.; RAO, K. Anticancer activity of phenolic antioxidants against breast cancer cells and a spontaneous mammary tumor. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.68, n.4, p.470–474, 2006.

INOUE, M.T.; RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHISI, Y.S. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1984.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sidra. 2011. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 04 março 2012.

ISMAIL, M.; BAGALKOTKAR, G.; IQBAL, S.; ADAMU, H.A. Anticancer properties and phenolic contents of sequentially prepared extracts from different parts of selected medicinal plants indigenous to malaysia. **Molecules**, v.17, n.5, p.5745 – 5756, 2012.

JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.24, n.4, p.289–297, 1991.

JAYAPRAKASHA, G.K.; NEGI, P.S.; JENA, B.S.; RAO, J.M. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylacinum* fruit extracts. **Journal of Food Compositions and Analysis**, v.20, n.3-4, p.330–336, 2007.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D.M.; ORTEGA-REGULES, A.E.; LOZADA-RAMÍREZ, J.D.; PÉREZ-PÉREZ, M.C.I.; VERNON-CARTER, E.J.; WELTI-CHANCES, J. Color and chemical stability of *spray dried* blueberry extract using mesquite gum as wall material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.24, n.6, p.889–894, 2011.

KANG, J.; THAKALI, K.M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M.B.; SCHAUSS, A.G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v.133, n.3, p.671–677, 2012.

KARAKAYA S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.6, p.453–464, 2004.

KENNEDY, J.F.; KNILL, C.J.; TAYLOR, D.W. Maltodextrins. In: KEARSLEY, M.W.; DZIEDZIC, S.Z. (Eds.). **Handbook of Starch Hydrolysis Products and their Derivatives**. London: Blackie Academic & Professional, 1995, p. 65-82.

KEOGH, M.K.; MURRAY, C.A.; O'KENNEDY, B.T. Effects of ultrafiltration of whole milk on some properties of *spray dried* milk powders. **International Dairy Journal**, v.13, n.12, p.995–1002, 2003.

KHONKARN, R.; OKONOGI, S.; AMPASAVATE, C.; ANUCHAPREEDA, S. Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.8-9, p.2122–2129, 2010.

KONG, J. M.; CHIA, L.S.; GOH, N.K.; CHIA, T.F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v.64, n.5, p.923–933, 2003.

KRINSKY, N.; YEUM, K.J. Carotenoid-radical interactions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.305, n.3, p.754–760, 2003.

KRINSKY, N.I. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, v.17, n.10, p.815–817, 2001.

KÜHNAU, J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v.24, n.1, p.117–191, 1976.

KUNTZ, S.; WENZEL, U.; DANIEL, H. Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. **European Journal of Nutrition**, v.38, n.3, p.133–142, 1999.

KYNGMI, M.S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.1, p.96–104, 2008.

LEDWARD, D.A. Gelatin. In: PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. **Handbook of Hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press, 2000, p. 67-86.

LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the ph differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.88, n.5, p.1269–1278, 2005.

LEEUEWEN, C.; FRIANT, P.; CHONÉ,X.; TREGOAT, O.; KOUNDOURAS, S.; DUBOURDIEU, D. Influence of climate, soil, and cultivar on terroir. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.55, n.3, p.207–217, 2004.

LEVYA, A.; JARILLO, J.A.; SALINAS, J.; MARTINEZ-ZAPATER, J.M. Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. **Plant Physiology**, v.108, n.1, p.39–46, 1995.

LI, F.; LI, H.B.; DENG, G.F.; LING, W.H.; WU, S.; XU, X.R.; CHEN, F. Antiproliferative activity of peels, pulps and seeds of 61 fruits. **Journal of Functional Foods**, v.5, n.3, p.1298–1308, 2013

LI, W.; HYDAMAKA, A.W.; LOWRY, L.; BETA, T. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. **Central European Journal of Biology**, v.4, n.4, p.499–506, 2009.

LICHTENTHALER, R.; RODRIGUES, R.B.; MAIA, J.G.; PAPAGIANNOPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of Euterpe oleraceae Mart. (açai) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.56, n.1, p.53–64, 2005.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; PRAZERES, F.G.; MUSSER, R.S.; LIMA, D.E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v.90, n.4, p.565–568, 2005.

LLORACH, R.; MARTINEZ-SANCHEZ, A.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.I.; FERRERES, F. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. **Food Chemistry**, v.108, n.3, p.1028–1038, 2008.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v.4, n.8, p.118–126, 2010.

LOKSUWAN, J. Characteristics of microencapsulated-carotene formed by *spray drying* with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.928–935, 2007.

LORENZI, H.H.M.; SOUZA, J.U.; COSTA, L.S.C.M.; CERQUEIRA, E.F. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. São Paulo: Nova Odessa, 2004.

MAC FADDEN, J. **A produção de açaí a partir do processamento dos frutos do palmito (*Euterpe edulis* Martius) na Mata Atlântica**. 112p. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727–747, 2004.

MANCINELLI, A.L. **The photoregulation of anthocyanin synthesis**. In: Shropshire Jr W, Mohr H, eds. *Photomorphogenesis*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1983.

MANHAES, L.R.T.; SABAA-SRUR, A.U.O. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits collected in Para. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.1, p. 856–863, 2011.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L.P.C. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmito. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Eds.) ***Euterpe edulis* Martius – (Palmito) biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000.

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J.; SCARMINIO, I.S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v.31, n.5, p.1218–1223, 2008.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In P.. Markakis (Ed.), **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. In: G. Mazza & Miniati, E. (eds.). CRC Press, Boca Raton, 1993.

MEDINA, A.L.; HAAS, L.I.R.; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIASI, R.C.; SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araca (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, n.4, p.916–922, 2011.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C.S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.639–644, 2006

MIKSICEK, R.J. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.208, n.1, p.44–50, 1995.

MIRMIRAN, P.; NOORI, N.; ZAVAREH, M.B.; AZIZI, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. **Metabolism**, v.58, n.4, p.460–468, 2009.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p.211–219, 2004.

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E.; FREI, B.; WROLSTAD, R.E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.3, p.519–525, 2002.

MURDOCK, K.; SCHAUSS, A. **Juçara and açai fruit-based dietary supplements** Int CI 60/456.882. 21 março. 2003, 18 junho 2009. US Patent Application Publication.

NASCIMENTO, R.J.S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S.P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açai extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.498–502, 2008.

NIJDAM, J. J.; LANGRISH, T. A. J. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. **Journal of Food Engineering**, v.77, n.4, p.919–925, 2006.

NIJVELDT, R.J.; NOOD, E.; HOORN, D.E.; BOELEN, P.G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P.A. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.74, n.4, p.418–25, 2001.

NODARI, R.O.; FANTINI, A.C.; GUERRA, M.P.; REIS, M.S.; SCHUCH, O. Conservação de frutos de sementes de palmito (Euterpe edulis Mart.) sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Árvore**, v.22, n.1, p.1–10, 1998.

NOGUEIRA, L.O. **Sistema de Produção do Açaí**. In: Sistemas de Produção, v.4 Açaí. Embrapa Amazônia Oriental, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/intro.htm>. Acesso em 20/maio/2013.

NUENGCHAMNONG, N.; INGKANINAN, K. On-line characterization of phenolic antioxidants in fruit wines from family myrtaceae by liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry and radical scavenging detection. **LWT - Food Science and Technology**, v.42, n.1, p.297–302, 2009.

OLDINI, T.L.C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas de espécie de *Apis Mellifera***. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, M.S.P.; CARVALHO, J.E.U.; NASCIMENTO, W.M.O. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Série Frutas Nativas, 7. Jaboticabal: Funep, 2000.

OLTHOF, M.R.; HOLLMAN, P.C.H.; VREE, T.B.; KATAN, M.B. Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. **Journal of Nutrition**, v.130, n.5, p.1200–1203, 2000.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, v.115, n.4, p.1199–1205, 2009.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; TALCOTT, S.T.; SAFE, S.; MERTENS-TALCOTT, S. Absorption and biological activity of phytochemical rich extracts from açai (*Euterpe oleracea*) pulp and oil in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.10, p.3593–3600, 2008.

PELEG, M.; MANNHEIN, C.H.; PASS, N. Flow properties of some food powders. **Journal of Food Science**, v.38, n.6, p.959–964, 1973.

PEREIRA, A. **Avaliação microestrutural de pós de suco de maracujá obtidos por spray drying**. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

PICHERSKY, E.; GANG, D.R: Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, v.5, n.10, p.439–445, 2000.

PIERUCCI, A.P.T.R.; ANDRADE, L.R.; FARINE, M.; PEDROSA, C.; ROCHA-LEÃO, M.H.M. Comparison of α -tocopherol microparticles produced with different wall materials: pea protein a new interesting alternative. **Journal of Microencapsulation**, v.24, n.3, p.201–213, 2007.

PIRES, A.S. **Perda de diversidade de palmeiras em fragmentos de Mata Atlântica: padrões e processos**. 108p. Tese (Doutorado em Ecologia Vegetal) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, n.1, p.1–11, 2007.

POLYAKOV, N.E.; LESHINA, T.V.; KONOVALOVA, T.A.; KISPERS, L.D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? **Free Radical Biology e Medicine**, v.31, n.3, p.398–404, 2001.

POMMER, C.V. **Uva: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre, Cinco Continentes, 2003.

POMPEU, D.R.; SILVA, E.M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v.100, n.23, p.6076–6082, 2009.

POULOSE, S.M.; FISHER, D.R.; LARSON, J.; BIELINSKI, D.F.; RIMANDO, A.M.; CAREY, A.N.; SCHAUSS, A.G.; SHUKITT-HALE, B. Anthocyanin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.4, p.1084–1093, 2012.

PRINCE, P.S.M.; RAJAKUMAR, S.; DHANASEKAR, K. Protective effects of vanillic acid on electrocardiogram, lipid peroxidation, antioxidants, proinflammatory markers and histopathology in isoproterenol induced cardiotoxic rats. **European Journal of Pharmacology**, v.668, n.1-2, p.233–240, 2011.

PRIOR, R.L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biological Medicine**, v.27, n.11-12, p.1173–1181, 1999.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n. 10, p.4290–4302, 2005.

QUEK, S.Y.; CHOK, N.K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of *spray dried* watermelon powder. **Chemical Engineering and Processing**, v.46, n.5, p.386–392, 2007.

RAHIMI, R.; NIKFAR, S.; LARIJANI, B.; ABDOLLAHI, M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.59, n.7, p.365–373, 2005.

RÉ, M. I. Microencapsulaion by *spray drying*. **Drying Technology**, v.16, n.6, p.1195–1236, 1998.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biological Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231–1237, 1999.

REINECCIUS, G.A. The *spray drying* of food flavors. **Drying Technology**, v.22, n.6, p.1289–1324, 2004.

REIS, A. **Distribuição de sementes de *Euterpe edulis* Martius – (Palmae) em uma Floresta Ombrófila Densa Montana da Enconta Atlântica em Blumenau, SC.** 154p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

REIS, A.; KAGEYAMA, P.Y. Dispersão de sementes de *Euterpe edulis* Martius Palmae. **Sellowia**, v.49, n.52, p.60–92, 2000.

RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Flavor Encapsulation**. Washington, DC: ACS, p.29-36, 1988.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review. **Analyst**, v.122, n.2, p.11R–34R, 1997.

ROBERT, P.; GORENA, T.; ROMERO, N.; SEPULVEDA, E.; CHAVEZ, J.; SAENZ, C. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by *spray drying*. **International Journal of Food Science & Technology**, v.45, n.7, p. 1386–1394, 2010.

ROCHA-GUZMÁN, N. E.; HERZOG, A.; GONZALEZ-LAREDO, R.F.; IBARRA-PEREZ, F.J.; ZAMBRANO-GALVAN, G.; GALLEGOS-INFANTE, J.A. Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chemistry**, v.103, n.2, p.521–527, 2007.

ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. Belém:EDUFPA, 2000.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in *spray drying* microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, n.5, p.1288–1294, 1990.

ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, v.50, n.1, p.139–144, 1985.

ROSENBERG, M.; TALMON, Y.; KOPELMAN, I. J. The microstructure of *spray dried* microcapsules. **Food microstructure**, v.7, p.15–23, 1988.

ROSSO, V.V.; HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E.C.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, n.4, p.291–299. 2008.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, n.5, p.996–1002, 2010.

RUFINO, M.S.M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; OLIVEIRA, M.S.P.; SAURA-CALIXTO, F. Açaí (*Euterpe oleracea*) ‘BRS Pará’: A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, v.44, n.7, p.2100–2106, 2011.

SAAVEDRA, A.T. **Constituintes polifenólicos e propriedades antioxidantes da polpa do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis*)**. 12p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SAHU, S.C.; GRAY, G.C. Pro-oxidant activity of flavonoids: effects on glutathione and glutathione S-transferase in isolated rat liver nuclei. **Cancer Letters**, v.102, n.2, p.193–196, 1996.

SANABRIA, N.; SANGRONIS, E. Caracterización del açaí o manacá (*Euterpe oleracea* Mart): um fruto del Amazonas. **Archivos Latino Americanos**, v.57, n.1, p.94–98, 2007.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficient of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, n.2, p.270–276, 1998.

SANTANA, A.C.; CARVALHO, D.F.; MENDES, F.A.T. **Análise sistêmica da fruticultura paraense: organização, mercado e competitividade empresarial.** Belém: Banco da Amazônia, 2008.

SANTOS, D.T.; VEGGI, P.C.; MEIRELES, M.A.A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v.101, n.1, p.23–31, 2010.

SCALBERT, A.; MORAND, C.; MANACH, C.; RÉMÉSY, C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56, n.6, p.276–282, 2002.

SCHAUSS, A.; WU, X.; PRIOR, R.L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWARL, A.; JENSEN, G.S.; HART, A.N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and others bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* mart. (açai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.22, p.8604–8610, 2006.

SCHIRMANN, G. S. **Composição em ácidos graxos do açaí (*Euterpe edulis*) de diversas regiões de Santa Catarina.** 80p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açaí de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius e influência de diferentes métodos de pasteurização sobre o açaí de *Euterpe edulis*.** 54p. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SEGTMAN, V.H.; ISAKSSON, T. Temperature, sample and time dependent structural characteristics of gelatine gels studied by near infrared spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, v.18, n.1, p.1–11, 2004.

SEMA. SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS. Resolução nº 019–**Estabelece normas e procedimentos para a proteção e utilização do palmito, *Euterpe edulis* Martius, no estado do Paraná,** 2010. Disponível em: <<http://www.legislacao.pr.gov.br/legislacao/listarAtosAno.do?action=iniciarProcesso&tipoAto=13&orgaoUnidade=1200&retiraLista=true&site=1>>. Acesso em 20/junho/2012.

SHAIKH, J.; BHOSALE, R.; SINGHAL, R. Microencapsulation of black pepper oleoresin. **Food Chemistry**, v.94, n.1, p.105–110, 2006.

SHU, B.; YU, W.; ZHAO, Y.; LIU, X. Study on microencapsulation of lycopene by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v.76, n.4, p.664–669, 2006.

SILVA FILHO, J.L.V. **Análise econômica da produção e transformação em ARPP, dos frutos de *Euterpe edulis* Mart. em açaí no município de Garuva estado de Santa Catarina.** 77p. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SILVA, J.K.; CAZARIN, C.B.B.; COLOMEU, T.C.; BATISTA, A.G.; MELETTI, L.M.M.; PASCHOAL, J.A.R.; JUNIOR, S.B.; FURLAN, M.F.; REYES-REYES, F.G.; AUGUSTO, F.; JUNIOR, M.R.M.; ZOLLNER, R.L. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. **Food Research International**, v.53, n.2, p.882–890, 2013.

SILVA, M. G. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. **Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí.** In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Florianópolis, Santa Catarina, 22 a 26 de novembro de 2004..Anais...CD ROOM, Florianópolis, SC, 2004.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144–158, 1965.

SLATNAR, A.; JAKOPIC, J.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; JAMNIK, P. The effect of bioactive compounds on *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity of different berry juices. **PLoS One**, v.7, n.10, e47880, 2012.

SOBRATTEE, M.A.; NEERGHEEN, V.S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O.I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.579, n.1-2, p.200–213, 2005.

STEVENS, P. Gelatine. In: IMESON, A. (Ed.). **Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents**, Oxford, UK: Wiley Blackwell, 2009, p.116-144.

STRACK, D.; WRAY, V. The anthocyanins. In: Harborne, J.B. (Ed.): **The Flavonoids**. Chapman & Hall/CRC, Washington, 1994.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.3, p.607–616, 2006.

STRINGHETA, P.C.; BOBBIO, P.A. Copigmentação de antocianinas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.14, p.34–37, 2000.

TABART, J.; KEVERS C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.O.; DOMMESA, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v.113, n.4, p.1226–1233, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Metabolitos Secundários e defesa vegetal**. In Fisiologia vegetal. Tradução: Eliane Romanato Santarém et al. – 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAPIERO, H.; TEW, K.D.; BA, G.N.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.56, n.4, p.200–207, 2002.

TERPINC, P.; ABRAMOVIC, H. A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolics acids. **Food Chemistry**, v.121, n.2, p.366–371, 2010.

TIAN, S.; NAKAMURA, K.; KAYAHARA, H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.15, p.4808–4813, 2004.

TODD, R.D. Microencapsulation and flavour industry. **Flavour Industry**, v.1, n.11, p.768–771, 1970.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of *spray dried* açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v.43, n.3, p.907–914, 2010.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by *spray drying*. **Journal of Food Engineering**, v.88, n.3, 411–418, 2008.

TRINDADE, M.A.; GROSSO, C.R.F. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v.17, n.2, p.169–176, 2000.

TSUKAMOTO FILHO, A.A. **Introdução do palmito (*Euterpe edulis* Martius) em sistemas agroflorestais em Lavras**. 148 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

UBALDE, J.M.; SORT, X.; ALICIA ZAYAS, A.; POCH, R.M. Effects of soil and climatic conditions on grape ripening and wine quality of cabernet sauvignon. **Journal of Wine Research**, v.21, p.1–17, 2010.

VEIGAS, J.M., NARAYAN, M.S.; LAXMAN, P.M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* skeels. **Food Chemistry**, v.105, n.2, p.619–627, 2007.

VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.10, p.4113–4117, 1998.

WAGNER, L.A.; WARTHESEN, J.J. Stability of *spray dried* encapsulated carrot carotenes. **Journal of Food Science**, v.60, p.1048–1053, 1995.

WANG, S.Y.; CHEN, T.S.; WANG, C.Y. The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberry. **Food Chemistry**, v.112, n.3, p.676–684, 2009.

WANG, S.Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.2, p.140–146, 2000.

WANG, X.; YUAN, S.; WANG, J.; LIN, P.; LIU, G.; LU, Y.; ZHANG, J.; WANG, W.; WEI, Y. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.215, n.2, p.168–178, 2006.

WENZEL, U.; KUNTZ, S.; BRENDDEL, M.D.; DANIEL, H. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. **Cancer Research**, v.60, n.14, p.3823–3831, 2000.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, p. 485–493, 2001.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza: Acribia, 1995.

WOO, H.H.; JEONG, B.R.; HAWES, M.C. Flavonoids: from cell cycle regulation to biotechnology. **Biotechnology Letters**, v.27, n.6, p.365–374, 2005.

WU, X., PRIOR, R.L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.7, p.2589–2599, 2005.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.11, p.4069–4075, 2006.

WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.12, p.4026–4037, 2004.

YÁÑEZ, J.; VICENTE, V.; ALCARAZ, M.; CASTILLO, J.; BENAVENTE-GARCÍA, O.; CANTERAS, M.; TERUEL, J.A.L. Cytotoxicity and antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: relationship between structure and activity. **Nutrition and Cancer**, v.49, n.2, p.191–199, 2004.

ZHAO, Z.; EGASHIRA, Y.; SANADA, H. Ferulic acid sugar esters are recovered in rat plasma and urine mainly as the sulfoglucuronide of ferulic acid. **The Journal of Nutrition**, v.133, n.5, p.1355–1361, 2003.